

PETER KÖHLER

**ENERGIESTOFFWECHSEL
VON ENDOPARASITEN
UND SEINE BEDEUTUNG
FÜR DIE CHEMOTHERAPIE**

HABILITATIONSSCHRIFT

zur Erlangung der *venia legendi*
an der Veterinär-medizinischen Fakultät der Universität Zürich

vorgelegt von

Dr. rer. nat. PETER KÖHLER



Juris Druck + Verlag Zürich
1981



Digitized by the Internet Archive
in 2026

PETER KÖHLER

**ENERGIESTOFFWECHSEL
VON ENDOPARASITEN
UND SEINE BEDEUTUNG
FÜR DIE CHEMOTHERAPIE**

HABILITATIONSSCHRIFT

zur Erlangung der *venia legendi*
an der Veterinär-medizinischen Fakultät der Universität Zürich

vorgelegt von

Dr. rer. nat. PETER KÖHLER



Juris Druck + Verlag Zürich
1981

PROZESSKONZEPTION
ENERGIEWIRTSCHAFTLICHE
VON ERDÖLPRODUKTEN
UND SEINE BEDeutUNG
FÜR DIE CHEMIEINDUSTRIE



INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. Einleitung	1
2. Vorbemerkungen zur biologischen Energietransformation obligat parasitischer Protozoen und Helminthen	3
3. Der energieliefernde Stoffwechsel parasitischer Protozoen	10
4. Der energieliefernde Stoffwechsel parasitischer Helminthen	26
4.1. Succinatbildung und anaerober Elektronentransport	33
4.2. Sauerstoffabhängige Elektronentransportsysteme	37
4.3. Die biologische Bedeutung des sauerstoffabhängigen Elektronentransports (oxidative Phosphorylierung)	47
4.4. Fettsäure- und Alkohol-Fermentationen	52
4.5. Der Tricarbonsäure-Zyklus	65
4.6. Die Bedeutung der Aminosäuren für den energieliefernden Stoffwechsel	68
4.7. Kompartimentierung und Membrantransport	71
5. Parasiten-Biochemie und Chemotherapie	78
6. Literaturverzeichnis (Literatur bis 1978 berücksichtigt)	97

Verzeichnis der Abkürzungen

ADP	Adenosin-5'-diphosphat
AMP	Adenosin-5'-monophosphat
ATP	Adenosin-5'-triphosphat
CoA	Coenzym A
DHAP	Dihydroxyacetonphosphat
ETS	Elektronentransport-System
FAD	Flavin-adenin-dinucleotid
FMN	Flavinmononucleotid
F-1,6-P ₂	Fructose-1,6-biphosphat
F-6-P	Fructose-6-phosphat
GAP	Glycerinaldehyd-3-phosphat
GDP	Guanosin-5'-diphosphat
GP	L-Glycerol-3-phosphat
GPO	Glycerolphosphat-Oxidase
GTP	Guanosin-5'-triphosphat
MAL	L-Malat
NAD ⁺ , NADH	Nicotinamid-adenin-dinucleotid und seine reduzierte Form
NADP ⁺ , NADPH	Nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat und seine reduzierte Form
OAA	Oxalacetat
P _i	anorganisches Phosphat
PCMB	p-Chlormercuribenzoat
PP _i	Pyrophosphat
PEP	Phosphoenolpyruvat
PGP	3-Phosphoglyceroyl-phosphat
PYR	Pyruvat
TSZ	Tricarbonsäure-Zyklus

1. EINLEITUNG

Parasitismus ist eine Form des Zusammenlebens verschiedenartiger Organismen, bei der ein Partner, der Parasit, von dem anderen, dem Wirt, physiologisch abhängig ist. Die Wechselwirkungen zwischen Parasiten und ihren Wirten können so gestaltet sein, dass der Wirtsorganismus nicht merklich geschädigt wird. Andererseits vermögen verschiedene Parasitenarten erhebliche Störungen des biologischen Gleichgewichtes im Parasit-Wirt-System zu verursachen, was zu schweren Schädigungen und zum Tod des Wirtes führen kann.

Trotz grosser Forschungsanstrengungen sind viele, durch Parasiten verursachte Infektionen heute noch weit verbreitet und noch unzureichend kontrollierbar. Dies trifft zum Beispiel für die Malaria, die Schistosomiasis, die Filariosen und die Trypanosomen-Infektionen zu. Aus neueren Statistiken ist zu entnehmen, dass derzeit über eine Milliarde Menschen in malariagefährdeten Gebieten lebt und viele Millionen dem Infektionsrisiko durch Trypanosomen ausgesetzt sind (1). Die Zahl der von Wurmparasiten befallenen Menschen dürfte gegenwärtig über eine Milliarde betragen. Dabei sind nur Erreger mit beträchtlicher Pathogenität berücksichtigt (2).

Auch die wirtschaftlichen Schäden, die durch parasitäre Erkrankungen der Nutztiere in der ganzen Welt entstehen, sind noch immer sehr hoch. Zum Beispiel sind schätzungsweise 250 Mio. Rinder und Schafe mit dem grossen Leberegel infiziert, und allein in Grossbritannien werden die durch diesen Erreger bedingten wirtschaftlichen Schäden auf 50 Mio. Pfund pro Jahr beziffert (3). Hinzu kommen Schwierigkeiten bei der landwirtschaftlichen Nutzung bestimmter Gebiete wegen des Vorkommens von Parasiten; so im tropischen Afrika, wo noch heute ca. 10 Mio. km² als Nagana-Gebiete gelten.

Obwohl schon im vergangenen Jahrhundert einzelne Ansätze zu Stoffwechseluntersuchungen an Parasiten bestanden, erfolgte der Anstoss

zu intensiveren Forschungen auf diesem Gebiet erst in jüngerer Zeit. Vor allem die Notwendigkeit zur Entwicklung von Antiparasitika während des II. Weltkrieges stimulierte einen Aufschwung parasitologischer Forschung mit spezieller Ausrichtung auf biochemische, physiologische und pharmakologische Problemstellungen.

Die Gründe dafür liegen jedoch nicht allein in dem Bestreben zur Lösung praktischer Probleme. Auch die Erkenntnis, dass sich Parasiten sowohl im stofflichen Aufbau wie im Bereich der metabolischen und physiologischen Abläufe von ihren Wirten unterscheiden, trug zur verstärkten Entwicklung der biochemischen Grundlagenforschung bei. Die Andersartigkeit der Parasiten beschränkt sich teilweise auf enge Stoffwechselbereiche, zum Beispiel die Eigenschaften isofunktioneller Enzyme. In Parasiten sind aber auch Stoffwechselprinzipien realisiert, die von denjenigen ihrer Wirte grundlegend abweichen. Die Erforschung dieser metabolischen Eigenheiten von Parasiten eröffnet somit nicht nur Möglichkeiten zur Vorbeuge und Bekämpfung parasitärer Infektionen, sondern stellt auch ein reizvolles Betätigungsfeld im Rahmen der vergleichenden Biochemie dar.

In der vorliegenden Arbeit werden die Wege der Energiegewinnung obligat parasitischer Protozoen und Helminthen beschrieben. Dieser Aspekt des Zellstoffwechsels ist besonders interessant, weil hier erhebliche Unterschiede zwischen Parasit und Wirt deutlich hervortreten. Darüber hinaus unterscheiden sich auch in diesem Bereich einzelne Parasitenarten voneinander. Da sich die eigenen experimentellen Erfahrungen auf Helminthen beschränken, wird dieser Parasitengruppe besondere Aufmerksamkeit gewidmet. Zum Vergleich werden aber auch wichtige neue Erkenntnisse über den Stoffwechsel medizinisch bedeutsamer Protozoen abgehandelt. In einem weiteren Kapitel werden die derzeitigen Kenntnisse über die molekularen Grundlagen der Wirkung von Antiparasitika dargelegt, soweit sie den Energiestoffwechsel betreffen. Ferner wird der Versuch gemacht, die Bedeutung der gewonnenen Erkenntnisse für die Entwicklung eines rationalen Konzeptes zur Chemotherapie darzulegen.

2. VORBEMERKUNGEN ZUR BIOLOGISCHEN ENERGIETRANSFORMATION OBLIGAT PARASITISCHER PROTOZOEN UND HELMINTHEN

Das allgemeine Prinzip biologischer Energiegewinnung besteht aus einem System elektronenabgebender und -aufnehmender Reaktionen oder Reaktionsketten, die durch Elektronenträger gekoppelt sind. Der für den Stoffwechsel der Zelle nutzbare Anteil der Gesamtenergie, welche bei den Redoxprozessen frei wird, liegt dabei zunächst in Form von "energiereichen" Zwischenverbindungen oder "energiereichen" physikalisch-chemischen Zuständen an Membranen vor, die mit dem universellen Energieträger ATP in Wechselwirkung stehen. Die Energiekonservierung über das ATP-System kann in tierischen Organismen entweder durch eine Substratstufen-Phosphorylierung erfolgen, wobei die freie Energie einer "energiereichen" chemischen Bindung in eine Pyrophosphatbindung von ATP übersetzt wird. Der hierbei häufig zu beobachtende Reaktionsverlauf gehorcht dem in Abb.1a dargestellten Schema. Eine andere, i.a. effizientere Möglichkeit führt über eine Elektronentransport-Phosphorylierung. Dabei wird ein grosser Teil des bei der Uebertragung der Elektronen von einem zum anderen Redoxsystem resultierenden Abfalls des elektrochemischen Potentials unter Mitwirkung eines komplizierten Phosphorylierungsmechanismus in Form der "energiereichen" Pyrophosphatbindung des ATP konserviert (Abb.1b).

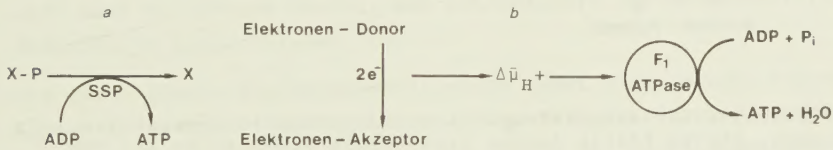


Abb.1. Schematische Darstellung einer mit (a) Substratstufen-Phosphorylierung (SSP) und (b) Elektronentransport-Phosphorylierung (ETP) gekoppelten enzymatischen Reaktion. X~P = "energiereiche" Phosphatbindung; $\Delta\mu_{H^+}$ = transmembraner elektrochemischer Protonengradient.

Die grosse Mehrheit der freilebenden Tiere gewinnt die zur Aufrechterhaltung ihrer Lebensvorgänge notwendige Energie durch vollständige Oxidation von Kohlenhydraten, Fettsäuren und Proteinen, wobei in erster Linie CO_2 und Wasser als Endprodukte auftreten. Der Abbau dieser Hauptnährstoffe erfolgt dabei über Stoffwechselketten und -zyklen, die eine Reihe von Möglichkeiten zur Energiekonservierung über Substratstufen- und Elektronentransport-Phosphorylierungen enthalten. Die gemeinsame Endstrecke in diesem Prozess ist bei den meisten Eukaryoten in den Mitochondrien lokalisiert und wird durch den Tricarboxylat-Zyklus und die Atmungskette gebildet (Abb.2).

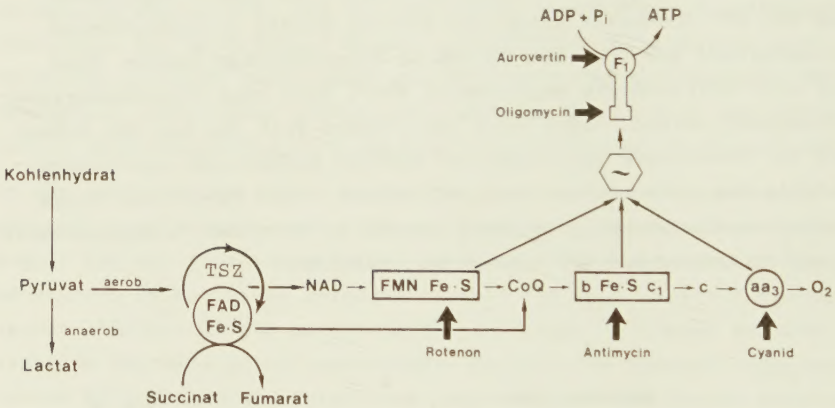


Abb.2. Wege der Kohlenhydrat-Oxidation in freilebenden, aeroben Organismen. Starke Pfeile deuten spezifische Hemmbezirke an. FMN und FAD = Flavin-Coenzyme von NADH- und Succinat-Dehydrogenase; CoQ = Coenzym Q₁₀; Fe·S = Eisen-Schwefel-Zentren; ~ = primäre elektronentransportgetriebene Energiekonservierung, b, c₁, c, und aa₃ = Cytochrome; F₁ = F₁-ATPase; TSZ = Tricarbonsäure-Zyklus.

Auch bei parasitischen Organismen wurden bisher keine Abweichungen von den grundlegenden Chemismen biologischer Energietransformation beobachtet. Im Unterschied zu freilebenden, vor allem höheren Tieren verfügen sie aber häufig über eine grössere Vielfalt von Möglichkeiten, Stoffwechselzwischenprodukte den erwähnten Phosphorylierungstypen zuzuführen. Die herausragende metabolische Besonderheit von Endoparasiten ist jedoch die Tatsache, dass vielen, vielleicht sogar den meisten Arten die Fähigkeit fehlt, Nahrungsstoffe unter Mitwirkung von Sauerstoff vollständig zu CO_2 und Wasser zu oxidieren. Da alle Parasiten Sauerstoff aufnehmen und dieser den meisten Arten auch in ihrer natürlichen Umgebung zur Verfügung steht, würde dies bedeuten, dass ihnen leistungsfähige terminale Oxidationswege fehlen oder diese in nur geringem Umfange funktionstüchtig sind. Die Folge davon ist, dass die biologische Energiegewinnung über eine nicht sehr wirkungsvolle Art betrieben wird und der grösste Teil der in den Nahrungsstoffen enthaltenen Energie mit den zur Ausscheidung gelangenden organischen Endprodukten für den Parasiten verlorengeht. Interessanterweise ist das Endprodukt aber nicht allein Lactat, das ausschliesslich nach anaerober Zuckerverwertung in Wirbeltieren auftritt (Abb.2). Obwohl einige Helminthen Kohlenhydrate quantitativ zu Lactat abbauen, tritt bei der Mehrzahl der Arten sowie bei allen bisher in dieser Richtung untersuchten Protozoen diese Verbindung als Endprodukt sehr zurück oder wird überhaupt nicht gebildet. Anstelle davon werden eine Vielzahl anderer organischer Verbindungen, aber auch gasförmige Stoffe, wie Kohlendioxid und Wasserstoff, als Endprodukte ausgeschieden (Tab.I).

Die geschilderte Stoffwechselsituation lässt auch gewisse Einschränkungen in bezug auf das Spektrum an verwertbaren Nahrungsstoffen erkennen. So dürften Fettsäuren zum Zwecke der Energiegewinnung kaum als Substrate in Betracht kommen, da ihre Dehydrierung so stark endergon ist, dass eine Kopplung mit anaeroben Akzeptorprozessen bei gleichzeitiger ATP-Synthese nicht möglich erscheint. In der Tat können Fettsäuren insbesondere von Helminthen höchstens in sehr begrenztem Umfang abgebaut werden und spielen damit - wenn

Tab. I

Endprodukte des energieliefernden Stoffwechsels in parasitischen Protozoen und Helminthen

Flüchtige Fettsäuren	Nichtflüchtige Säuren	Alkohole	Gase
Acetat	Lactat	Aethanol	Kohlendioxid
Propionat	Pyruvat	Propanol	Wasserstoff
Valerat	Succinat	Glycerol	
2-Methylbutyrat			
2-Methylvalerat			
Crotonat			
2-Methylcrotonat			

überhaupt - nur eine untergeordnete Rolle (4-9). Die Bedeutung der Proteine bzw. Aminosäuren für den Energiestoffwechsel ist dagegen noch umstritten. Von einigen Autoren wird jedoch eine enge Beziehung zwischen Aminosäure- und energielieferndem Stoffwechsel postuliert (10-13). Wie die späteren Ausführungen zeigen, trifft dies mit Sicherheit für bestimmte Arten zu. Im wesentlichen beschränken sich jedoch die für die Gewinnung von Energie verwertbaren Substrate auf die Kohlenhydrate, wobei - in Analogie zu den höheren Tieren - Glykogen die hauptsächliche Speicherform darstellt (4,5).

Die Unfähigkeit der meisten parasitischen Protozoen und Helminthen, mittels Sauerstoff eine vollständige Substrat-Oxidation und damit eine hohe Energieausbeute zu erreichen, beinhaltet aber nicht, dass diese Organismen einen strikt anaeroben Energiestoffwechsel besitzen. Darauf weist schon die Beobachtung hin, dass alle Endoparasiten Sauerstoff aufnehmen und diesen in ihrem Stoffwechsel verwerten. Die Bedeutung des Sauerstoffs für den energieliefernden Stoffwechsel scheint dabei sehr unterschiedlich zu sein (Tab.II). Für einige Arten konnte durch Kohlenstoff-Bilanzmessungen sichergestellt werden, dass das Endproduktmuster des anaeroben und aeroben Kohlen-

hydrat-Stoffwechsels in seiner qualitativen und quantitativen Zusammensetzung weitgehend identisch ist. Auf den energieliefernden Stoffwechsel der Trematoden Schistosoma mansoni (14) und Fasciola hepatica (15,16) dürfte Sauerstoff deshalb höchstens einen geringfügigen Einfluss haben. In anderen Fällen hingegen kann ein deutlicher Effekt des Sauerstoffs auf die ausgeschiedene Menge und Zusammensetzung der Endprodukte beobachtet werden. Beispiele dafür liefern die Blutstromformen verschiedener afrikanischer Trypanosoma-Arten, bei denen die anaerobe Bildung von Glycerol nach Zufuhr von Sauerstoff fast vollständig zum Erliegen kommt (17,18), sowie die Einstellung der Acetatbildung durch Entamoeba histolytica in axenischen Kulturen beim Wechsel von aeroben zu anaeroben Inkubationsbedingungen (19). Bei Helminthen verursacht Sauerstoff häufig eine gegenüber der Anaerobiose reduzierte Bildung von Succinat und der sich davon ableitenden Exkrete. Beispiele dazu liefern Dicrocoelium dendriticum (20), Nippostrongylus brasiliensis (21) und die larvalen Stadien von Mesocestoides corti (22).

Bei manchen Parasiten kann Sauerstoff auch eine deutliche Wirkung auf die Kohlenhydrataufnahmerate im Sinne eines echten Pasteur-Effektes ausüben (21). Bei den meisten Arten ist aber eine Rückkopplung der terminalen sauerstoffabhängigen Metabolismen auf die Kohlenhydratverwertung nur in geringem Umfang oder überhaupt nicht feststellbar (14-16,23,25,26,28-30) (Tab.II).

Die Beobachtungen über den Einfluss der Aerobiose auf den Stoffwechsel von Endoparasiten haben zu erkennen gegeben, dass die Bedeutung des Sauerstoffs nicht für alle Arten die gleiche ist. Dafür spricht auch die unterschiedliche Toleranz verschiedener Parasiten gegenüber Sauerstoff. Manche zeigen ein absolutes Aerobiosebedürfnis (27) und bei anderen erwies sich Sauerstoff für optimales Wachstum (32) oder für die Motilität (33) als notwendig. Eine optimale Entwicklung der Cestoden Spirometra mansonoides (34) und Hymenolepis diminuta (35) in vitro erfolgt dagegen unter einer Gasphase aus 97% Stickstoff

Tab. II

Die Wirkung von Sauerstoff auf den Kohlenhydratstoffwechsel von parasitischen Protozoen und Helminthen

Spezies	Aerober Kohlenhydratumsatz ^a	Aerob gebildete organische Endprodukte ^b
<u>Entamoeba histolytica</u> (23)	55 ^c	109 ^d
<u>Trypanosoma rhodesiense</u> (54)	150	93
<u>Trypanosoma cruzi</u> (Kulturformen) (24)	-	65 ^d
<u>Taenia taeniaeformis</u> (Adulte) (25)	70	120
<u>Taenia taeniaeformis</u> (Larven) (25)	86	111
<u>Heterakis gallinarum</u> (26)	83	132
<u>Nippostrongylus brasiliensis</u> (21)	43 ^c	18
<u>Litomosoides carinii</u> (27)	136 ^c	79 ^c
<u>Echinococcus granulosus</u> (28) (Scoleces)	89	74
<u>Fasciola hepatica</u> (15)	79	109
<u>Dicrocoelium dendriticum</u> (29-31)	109 ^c	59 ^d
<u>Schistosoma mansoni</u> (14)	102 ^c	113

^aIn % gegenüber Anaerobiose. ^b% Kohlenstoff des aufgenommenen Kohlenhydrat-Kohlenstoffs. ^cGlykogenumsatz berücksichtigt. ^dDurch Pyruvat- und Succinat-Decarboxylierung freiwerdendes CO₂ berücksichtigt.

und 3% CO₂. In vitro aerob gehaltene und in vivo lebende Schistosome zeigen keine Veränderungen ihres physiologischen Verhaltens, wenn die Sauerstoffaufnahme durch Zugabe von Cyaninfarbstoff reduziert wird (36), dagegen bedeutete diese Milieuveränderung für

Litomosoides carinii den schnellen Tod (27). Neuere in vitro-Versuche mit adulten Schistosoma mansoni haben gezeigt (14), dass der Ausschluss von Sauerstoff keine Veränderungen von Motilität, Sexualverhalten, Glucoseaufnahme und Lactatproduktion bewirkt; die Eiproduktion war unter diesen Bedingungen jedoch praktisch eingestellt.

Bei den Protozoen sind die Unterschiede in bezug auf das Sauerstoffbedürfnis noch ausgeprägter als bei den Helminthen. Von einigen Arten wissen wir, dass sie in vitro durch Sauerstoff leicht zu vernichten sind. Dazu gehören Termiten- und Cryptocercus-Flagellaten (37) sowie Panseninfusorien (38). Amöben werden zwar nicht durch Sauerstoff abgetötet, bei manchen Arten findet unter Aerobiose aber anscheinend keine Vermehrung und Enzystierung statt (39). Dagegen verhalten sich Blutprotozoen, wie Malariaplasmodien und Trypanosomen, in ihrer natürlichen Umwelt, in der sie niemals ernsthaftem Sauerstoffmangel ausgesetzt sind, ausgesprochen aerob. Andererseits ist aber auch bekannt, dass besonders die Trypanosomatiden gegen experimentellen Sauerstoffentzug ziemlich widerstandsfähig sind (17).

Diese wenigen Beispiele zeigen, dass Verallgemeinerungen bei der Frage nach dem Sauerstoffbedarf von Endoparasiten nicht möglich sind. Die Ursachen für dieses unterschiedliche Verhalten sind noch weitgehend unbekannt. Hingegen liegen einige experimentelle Arbeiten vor, aus denen bereits konkrete Vorstellungen über die Bedeutung des Sauerstoffs für parasitisch lebende Protozoen und Helminthen abgeleitet werden können. Hierüber soll in einem späteren Abschnitt ausführlicher berichtet werden.

Die Kohlenhydratverwertung wird bei parasitischen Protozoen und Helminthen wie bei allen freilebenden Organismen vorwiegend durch phosphorylierende Glykolyse eingeleitet und folgt in den meisten Fällen dem klassischen Embden-Meyerhof-Schema zumindest bis zum PEP oder Pyruvat. Die Enzyme der Glykolyse zeigen in vielen Fällen grosse Übereinstimmungen oder nur geringere Abweichungen in ihren Eigenschaften gegenüber den vergleichbaren Enzymen der höheren

Tiere. Beispiele für ein stärker abweichendes Verhalten isofunktio-
neller Enzyme liefern die hohe Empfindlichkeit der Glucokinase von
Entamoeba histolytica gegenüber AMP (40), die Aktivierung der Aldo-
lasen von *Trichomonas vaginalis* durch Eisen- und Kobaltsalze (41)
und die starke Hemmbarkeit der Phosphofructokinase mancher Helminthen
durch organische Antimonverbindungen (42).

Ein metabolisch grundlegend abweichendes Verhalten des Parasiten
gegenüber dem Wirbeltiergewebe ist häufig erst im unteren Glykolyse-
abschnitt festzustellen. Von der Stufe des PEP oder Pyruvates ab
werden zum Teil sehr unterschiedliche Wege bei der weiteren Kohlen-
hydratverwertung beschritten, in deren Verlauf auch die Besonder-
heiten der biologischen Energiegewinnung zu beobachten sind.

3. DER ENERGIELIEFERNDE STOFFWECHSEL PARASITISCHER PROTOZOEN

Ueber den Energiestoffwechsel parasitischer Protozoen sind bisher
nur für wenige Arten gründliche und systematische Untersuchungen
durchgeführt worden. Ein Grund dafür ist in den meisten Fällen die
schwierige Beschaffung genügender Mengen Untersuchungsmaterials.
Nur wenige Arten lassen sich derzeit in Kulturmedien züchten, und
die Isolierung der Parasiten aus dem Wirtsgewebe, besonders der
intrazellulär lebenden Formen, ist häufig kompliziert. Es ist aller-
dings anzunehmen, dass sich diese Situation rasch ändern wird. Nach-
dem Kulturformen der Trypanosomen des *brucei*-Artenkomplexes schon
seit längerem in chemisch definierten Medien vermehrt werden können
(43), sind neuerdings auch Verfahren entwickelt worden, die eine
in vitro-Züchtung der Blutstromformen ermöglichen (44). Ein beson-
derer Fortschritt in dieser Richtung ist auch der kürzlich bekannt-
gewordene erfolgreiche Versuch einer kontinuierlichen *in vitro*-
Züchtung von *Plasmodium falciparum*, dem Erreger der Malaria tropica
(45,46).

Bisher wurden nur wenige Protozoen-Parasiten einer gründlichen
biochemischen Analyse unterzogen. Aus den Ergebnissen wird aber deut-
lich, dass diese Organismen über eine grosse Vielfalt von Möglichkei-
ten zur Kohlenhydratverwertung und damit auch zur biologischen Energie-

gewinnung verfügen und in dieser Beziehung grössere Ähnlichkeiten zu den Prokaryoten als zu freilebenden höheren Tieren bestehen.

Aufgrund der überragenden medizinischen Bedeutung, die einer grösseren Anzahl afrikanischer und amerikanischer Trypanosoma-Arten zukommt, sind die Trypanosomatiden schon seit längerer Zeit Gegenstand intensiver biochemischer Forschung. Erst in neuerer Zeit sind auch andere Protozoen-Parasiten, vor allem medizinisch wichtige Vertreter der Amöben und Trichomonaden, in dieser Richtung eingehender untersucht worden.

Trypanosomen zeigen in ihrem Stoffwechselgeschehen nicht nur grössere Abweichungen von den meisten freilebenden Metazoen. Untersuchungen über die Ultrastruktur und den Stoffwechsel der Blutstrom- und Kultur- bzw. Vektorformen haben darüber hinaus ergeben, dass die morphologischen Veränderungen während des Entwicklungskreislaufes von tiefgreifenden Veränderungen im Bereich der Stoffwechselmechanismen begleitet werden (47-52).

Die im Blut von Wirbeltieren parasitierenden afrikanischen Trypanosomen zeigen eine extrem rasche, jedoch unvollständige Kohlenhydrat-Oxidation (Tab.II), wobei eine dem Parasiten-Trockengewicht vergleichbare Substratmenge pro Stunde umgesetzt werden kann (53). Der Abbau des Kohlenhydrates führt über den Weg der Glykolyse zur Bildung von Pyruvat (54), wobei ein Nettogewinn von 2 Molen ATP pro Mol Glucose erzielt wird (Abb.3). Das entstehende Pyruvat kann vom Parasiten nicht weiter verwertet werden und wird als hauptsächliches Endprodukt ausgeschieden.

Ein ungehinderter Ablauf der Glykolyse ist aber nur dann gewährleistet, wenn das während der Trioseoxidation gebildete NADH reoxidiert werden kann (Abb.3). Den Blutstromformen der Trypanosomen des brucei-Artenkomplexes und anderer salivariischer Trypanosomen stehen dafür die konventionellen Wege der Milchsäurebildung bzw. der mitochondrialen Atmungskette nicht zur Verfügung (47-52).

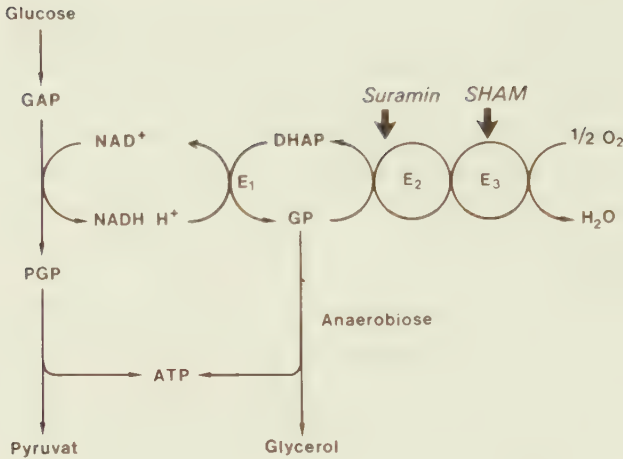


Abb.3. Energieliefernder Stoffwechsel der Blutstromformen afrikanischer Trypanosomen (modifiziert nach Hill, 56). E₁ = L-Glycerol-3-phosphat-Dehydrogenase; E₂ = partikuläre L-Glycerol-3-phosphat-Dehydrogenase; E₃ = L-Glycerol-3-phosphat-Oxidase.

Ihr Alternativweg ist ein Mechanismus ganz besonderer Art (51,55, 56), der bisher bei anderen Organismen nicht beobachtet wurde. Sein Verlauf ist in Abb.3 schematisch dargestellt. Primärer Wasserstoff-Akzeptor ist in diesem System glykolytisch gebildetes Dihydroxy-aceton-phosphat (DHAP), das durch lösliche, NADH-abhängige L-Glycerol-3-phosphat-Dehydrogenase (EC 1.1.1.8) zu L-Glycerol-3-phosphat (GP) reduziert wird. Vom GP werden die Reduktionsäquivalente auf ein partikuläres Elektronentransportsystem, den Glycerolphosphat-Oxidase-Komplex (GPO), übertragen, wodurch DHAP reoxidiert wird. Terminaler Elektronen-Akzeptor für die GPO ist Sauerstoff, aus dem nach Reduktion Wasser entsteht.

Die Eigenschaften der Trypanosomen-spezifischen GPO sind in jüngster Zeit wieder in den Brennpunkt des Interesses gerückt, nicht zuletzt deshalb, weil hier offenbar auch der Angriffspunkt einiger Trypanosomizide zu suchen ist. Nach neueren Untersuchungen (56,57) handelt

es sich um einen mitochondrial lokalisierten Enzymkomplex, der zwei verschiedene enzymatische Komponenten enthält, eine partikuläre L-Glycerol-3-phosphat-Dehydrogenase und die ebenfalls membrangebundene terminale Oxidase, die Elektronen von der Dehydrogenase aufnimmt und auf Sauerstoff überträgt (Abb.3).

Für die katalytische Aktivität wichtige Bestandteile der GPO sind neben FAD, das wahrscheinlich der Dehydrogenase als prosthetische Gruppe dient, Sulfhydrylgruppen sowie Eisen- und Kupfer-Ionen. Letztere könnten als Bestandteil der terminalen Oxidase an der Katalyse des Elektronentransports zum Sauerstoff beteiligt sein. Zu den weiteren, schon seit längerem bekannten Eigenschaften der GPO gehören ihre Unempfindlichkeit gegenüber Hemmstoffen der Atmungskette, wie Amytal, Antimycin, Cyanid oder Azid und ihre geringe Affinität zum Sauerstoff ($K_m = 2,1 \mu M O_2$) (51,56). Eine Synthese von ATP kann mit dem GPO-katalysierten Elektronentransport nicht gekoppelt werden (51).

Obwohl die überragende Bedeutung der GPO-abhängigen Atmung für die Blutstrom-Trypanosomen unbestritten ist, dürften diese Organismen zusätzlich über mindestens einen Alternativweg zur Energiegewinnung im Zusammenhang mit dem Abbau von Kohlenhydrat verfügen. Diese Erkenntnis geht auf die Beobachtung zurück, dass Anaerobiose oder die selektive Hemmung der GPO nur eine geringfügige Wirkung auf die Motilität und ATP-Produktion der Parasiten zur Folge haben (58). Da der Glucoseabbau mit der Bildung äquimolarer Mengen Pyruvat und Glycerol endet (54), könnte für den alternativen Weg der Energiegewinnung eine ATP Konservierung über die Glycerokinase-Reaktion in Betracht gezogen werden (Abb.3).

Die beschriebene metabolische Situation ist für die verschiedenen polymorphen Blutstromformen von Trypanosoma brucei und anderer Arten nicht in gleichem Masse bedeutungsvoll. Für die schlanken Individuen, die in der akuten Phase der Infektion überwiegen, scheint sie das einzige Prinzip biologischer Energiegewinnung zu sein. Neben diesen finden sich kürzere, plumpe Formen, die offenbar für die Infektion der Tsetse-Fliege verantwortlich sind und deren Stoff-

wechselseigenschaften eine intermediäre Stellung zwischen den schlanken Blutstrom- und den Vektor- bzw. Kulturformen einnehmen. Neben Pyruvat und Glycerol treten bei diesen Formen Succinat, Acetat und vermehrt CO_2 als Endprodukte des Kohlenhydrat-Stoffwechsels auf (48,50), und ihre Mitochondrien besitzen gut entwickelte tubuläre Cristae (51). Diese Befunde zeigen, dass die Transformation der Blutstrom-Trypanosomen bereits im Wirbeltier durch Veränderungen im ultrastrukturellen und metabolischen Bereich des Parasiten vorbereitet wird.

Der Lebensraum der Insektenstadien unterscheidet sich grundlegend von demjenigen der Blutstromformen. Für die Organisation des energieliefernden Stoffwechsels des Parasiten dürften dabei das weit weniger reichliche und in seiner Zusammensetzung andersartige und grösseren Schwankungen unterliegende Nahrungsangebot und der Sauerstoffdruck, der im Wirbellosendarm extrem niedrige Werte erreichen kann, von besonderer Bedeutung sein. In Anpassung an diese Verhältnisse sind die Insektenstadien vermutlich dazu befähigt, einen gegenüber den Blutstromformen ungleich höheren ökonomischen Wirkungsgrad bei der Nahrungsverwertung zu erzielen.

Die Erforschung der Vektorstadien wurde hauptsächlich an Kulturformen verschiedener Trypanosoma-Arten durchgeführt. Diese können unter geeigneten Bedingungen durch Transformation aus Blutstromformen erhalten und in Kulturmedien vermehrt werden. Sie gelten als weitestgehend identisch mit den im Arthropodendarm parasitierenden Stadien. Im Gegensatz zu den Blutformen besitzen sie die Fähigkeit, Krebszyklus-Intermediate sowie Prolin oxidativ abzubauen, und ihre Mitochondrien zeichnen sich durch eine Vielzahl lamellenförmiger Cristae aus (48,50,52). Offensichtlich in Anpassung an die physiologischen Gegebenheiten im Insekt kommt dabei dem Prolin eine besondere Rolle unter den Nährstoffen zu. Der Darm der Tsetse-Fliege enthält reichlich Protein und Aminosäuren, jedoch nur sehr wenig Kohlenhydrat, und die Hämolymphe zeigt einen hohen Gehalt an Prolin, das als hauptsächliche Energiequelle der Flugmuskulatur dieser Insekten angesehen wird. Endprodukte des Prolinabbaus im

Trypanosom sind vorwiegend CO_2 , Alanin und Aspartat. Damit sind auch diese Parasitenformen nicht zu einer vollständigen Oxidation des Kohlenstoff-Skeletts befähigt. Einer der möglichen Gründe dafür liegt in der spezifischen Funktionsweise des Tricarboxylat-Zyklus, die nicht dem klassischen Muster folgt und bei der neben CO_2 Succinat als Endprodukt eliminiert wird. Das Ausmass der möglichen Dehydrierungen ist somit stark eingeschränkt. Die energetische Situation ist jedoch auch unter diesen Bedingungen günstiger als die der schlanken Blutstromformen, da ein grosser Anteil der reduzierten Coenzyme über respiratorische Mechanismen reoxidiert wird, die mit einer wirkungsvollen ATP-Synthese gekoppelt werden können.

Für die Atmung der Kultur- und Vektorformen sind mindestens zwei verschiedene respiratorische Systeme verantwortlich. Diese konnten durch spektroskopische Verfahren und Inhibitorstudien bereits zum Teil charakterisiert werden (51,56). Hill und Degn (56,59) fanden in den Kulturformen von Trypanosoma brucei und Trypanosoma mega drei verschiedene terminale Oxidasen, wovon zwei eine hohe Affinität zum Sauerstoff besitzen ($K_m = 0.05-0.1 \mu\text{M O}_2$) und auf deren Aktivitäten 80-95% der gesamten Zellatmung zurückzuführen sein dürften. Eines der beiden Oxidase-Systeme besitzt grössere Ähnlichkeiten zur konventionellen Atmungskette, denn es enthält wie diese die Cytochrome b, c_1 , c und aa_3 . In ihren strukturellen und spektralen Eigenschaften zeigen diese Cytochrome jedoch zum Teil atypisches Verhalten (56), und die Alternativ-Oxidase scheint mit Cytochrom o identisch zu sein. Mit Sicherheit konnte eine Cytochrom o-haltige terminale Oxidase aber erst für Trypanosoma mega, Leishmania tarentolae und Blastocrithidia culicis nachgewiesen werden (60).

Die Präsenz verschiedener mitochondrialer Oxidase-Systeme in Trypanosomen gab Anlass zur Vorstellung von einer verzweigten Elektronentransport-Kette. Für Trypanosoma mega haben Ray und Cross (61) dazu das folgende Schema postuliert (Abb.4):

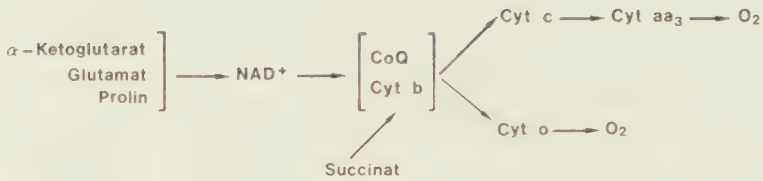


Abb.4. Vermutliche Zusammensetzung und Organisation des Elektronentransport-Systems von Trypanosoma mega (nach Ray und Cross, 61).
CoQ = Coenzym Q₉.

Die Beobachtung, dass die Kulturformen der Trypanosomen und Insekten-Trypanosomatiden auch in Gegenwart von Sauerstoff organische Verbindungen als metabolische Endprodukte ausscheiden (48,50,51) (Tab.II), macht deutlich, dass eine Substrat-Oxidation zu CO₂ und Wasser offenbar nur in begrenztem Umfang erfolgen kann. Andererseits weist die Anwesenheit respiratorischer Systeme auf die Möglichkeit zu einer Elektronentransport-abhängigen Energiekopplung hin. In der Tat können Crithidia fasciculata und Crithidia luciliae eine oxidative Phosphorylierung ausführen (62-64), die in Analogie zur Atmungsketten-Phosphorylierung der höheren Tiere durch Elektronentransport-Inhibitoren, Entkoppler und Oligomycin in charakteristischer Weise zu beeinflussen ist (64). Die experimentell nachgewiesenen P/O-Quotienten sind jedoch sehr gering. Angaben über Anzahl und Art der am Phosphorylierungsprozess beteiligten Kopplungsbezirke sind deshalb derzeit noch nicht möglich.

Der Phosphorylierungsapparat des Trypanosomen-Mitochondrions verfügt offenbar auch über Eigenschaften, die im vergleichbaren System aller anderen, bisher in dieser Richtung untersuchten Organismen, einschliesslich verschiedener niederer Pflanzen, nicht vorhanden

sind. Opperdoes et al. (65) konnten nachweisen, dass die F_1 -ATPase (vgl. Abb.2) von Crithidia luciliae durch Aurovertin und den ATPase-Inhibitor der Rinderherz-Mitochondrien nicht gehemmt wird. Die Autoren vermuten daher, dass die primitiven Flagellaten schon sehr früh aus der Hauptlinie der Eukaryoten-Evolution abgezweigt sein müssen, noch bevor die Trennung in pflanzliche und tierische Organismen erfolgt ist.

Trypanosomen scheinen ursprünglich ausschliesslich Bewohner des Darmes von Wirbellosen gewesen zu sein, eine Lokalisation, in die sie sich auch heute noch bei der zyklischen Uebertragung zwischen Wirbellosen und Wirbeltier vorübergehend aufhalten. Da die Trypanosomen der Wirbellosen das spezifische GPO-System der Blutstromformen nicht besitzen, kann angenommen werden, dass die Entwicklung der mit einer spezifischen GPO gekoppelten Glykolyse in Trypanosomen eine phylogenetisch jüngere Stoffwechselerrungenschaft ist.

Nach der Uebertragung auf den Wirbeltierwirt unterliegen die Trypanosomen einer Transformation, die mit tiefgreifenden ultrastrukturellen und metabolischen Veränderungen verbunden ist. Diese wurden bereits eingehender beschrieben und dürften als Antwort auf die veränderten Umweltbedingungen zu verstehen sein. Der Blutzucker stellt eine praktisch nie versagende Kohlenhydratquelle dar und auch Sauerstoff ist reichlich vorhanden, wodurch die Notwendigkeit zu einer ökonomischen Ausnutzung der Nahrungsstoffe nicht mehr gegeben ist. Das Prinzip der Verwendung des Sauerstoffs zur Aufrechterhaltung des Redoxstatus der Zelle wird jedoch beibehalten, wozu das nach der Uebertragung der Trypanosomen auf das Wirbeltier sich entwickelnde GPO-System dient.

Unter den Flagellaten zeigen nicht nur die Trypanosomatiden aussergewöhnliche cytologische und biochemische Eigenschaften. Eine besonders interessante Gruppe scheinen in dieser Beziehung auch die Trichomonaden darzustellen. Da Kulturen verschiedener Spezies dieser Protozoen unter strikt anaeroben Verhältnissen wachsen können (66), werden sie in der Literatur häufig als Anaerobier beschrieben (67). Diese Definition ist aber sicher nicht zutreffend, da alle Tricho-

monaden in Gegenwart von Sauerstoff eine deutliche Atmung zeigen und nach neuesten Untersuchungen Sauerstoff offenbar auch mit Vorteil im Stoffwechsel verwertet werden kann (66). Die Fähigkeit, Kohlenhydrate vollständig oxidativ abzubauen, fehlt jedoch auch diesen Parasiten (64,66-68). Interessant ist weiterhin die Tatsache, dass Trichomonaden Wasserstoff bilden (66,68,69), eine Eigenschaft, die nur ganz wenige eukaryotische Lebewesen besitzen und die bei Helminthen nie beobachtet wurde.

Die Hauptwege des anaeroben und aeroben Kohlenhydratstoffwechsels von Tritrichomonas foetus führen zur Bildung von Acetat und Succinat (66) (Abb.5). Ueber die Glykolyse folgt der Kohlenhydratabbau zunächst bekannten Wegen bis zum PEP. Diese Stufe ist der Ausgangspunkt für eine metabolische Verzweigung, in deren weiterem

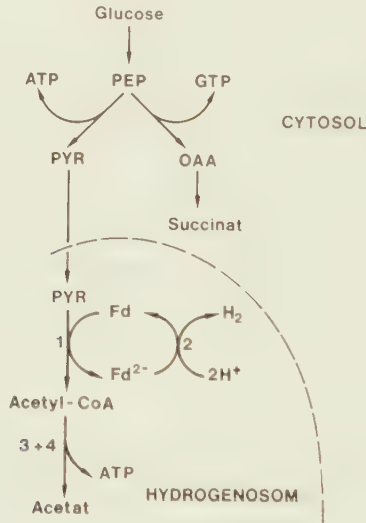


Abb.5. Anaerober Energiestoffwechsel in Tritrichomonas foetus (modifiziert nach Müller,66). 1 = Pyruvat-Synthase; 2 = Hydrogenase; 3 = Acetyl-CoA-Succinat-Transferase; 4 = Succinat-Thio-kinase. Fd = Ferredoxin.

Verlauf Stoffwechselmechanismen auftreten, die in höheren Tieren nicht vorkommen. Einerseits kann über Pyruvat durch oxidative Decarboxylierung Acetat gebildet werden, wobei 2 Mole ATP pro Mol PEP über Substratstufen-Phosphorylierungen entstehen. Ein anderer Anteil des PEP wird nach CO_2 -Fixierung in Oxalacetat übergeführt, das seinerseits via Malat ebenfalls zu Pyruvat und Acetat abgebaut oder zu Succinat reduziert wird.

Der Weg der Succinatbildung ist ein weit verbreitetes Prinzip zur Gewinnung von chemischer Energie in parasitischen Helminthen (siehe Abschnitt 4.1.). Für Tritrichomonas foetus haben Untersuchungen von Müller und Lindmark (66,70) ergeben, dass die Reduktion des Fumarats zu Succinat durch ein lösliches, cytoplasmatisches Enzym katalysiert wird, für das NADH nicht als Coenzym dienen kann. Die Reaktion verläuft praktisch irreversibel und ist nicht - wie bei den Helminthen - mit einer Phosphorylierung von ADP verknüpft.

Eine besonders interessante Eigenschaft des energieliefernden Stoffwechsels von Tritrichomonas foetus liegt zweifellos in der Acetat-Bildung. Die dafür notwendige enzymatische Ausstattung ist in besonderen Partikeln, den Hydrogenosomen, lokalisiert (66,69). In diesen Organellen wird durch eine gekoppelte Reaktion zweier Enzyme Pyruvat zunächst zu Acetyl-CoA dehydriert (Abb.5). Dieser Prozess, der in seinem genaueren Ablauf noch unbekannt ist, gleicht somit formal der Pyruvat-Dehydrogenase-katalysierten Bildung von Acetyl-CoA in den Mitochondrien der höheren Tiere, bei der NAD^+ als terminaler Elektronen-Akzeptor wirkt (vgl. dazu Gl.8). Die Mitwirkung von Pyridin-nucleotid-Coenzymen ist aufgrund der Lage ihres Oxidations-Reduktions-Potentials jedoch sehr unwahrscheinlich, da das Trichomonaden-Enzymsystem mit einem Prozess gekoppelt ist, der unter anaeroben Reaktionsbedingungen zur Bildung von molekularem Wasserstoff führt (66,68). Es wurde deshalb angenommen, dass der Reaktionsverlauf Ähnlichkeit zur Ferredoxin-abhängigen Pyruvat-Synthase-Reaktion der Clostridien (71) besitzt. Obwohl die Identität des natürlichen Redoxkatalysators noch nicht sichergestellt werden konnte, haben in vitro-Experimente bereits erkennen lassen, dass auch im Trichomo-

naden-System Ferredoxin die Coenzym-Rolle übernehmen kann (66,69, 70) (vgl. dazu Abb.5). Ferredoxine sind Eisen-Schwefel-Proteine mit zum Teil extrem niedrigem Oxidations-Reduktionspotential, denen in Pflanzen und Mikroorganismen bei verschiedenartigsten Stoffwechselleistungen eine wichtige Aufgabe als Elektronen-Akzeptoren zufällt. Da der Reaktionsablauf der Pyruvat-Oxidation in Tritrichomonas foetus im Gegensatz zur Reaktion der mitochondrialen Pyruvat-Dehydrogenase (EC 1.2.4.1) reversibel ist, wird das Enzym, in Analogie zum Clostridien-Enzym, Pyruvat-Synthase (EC 1.2.7.1) genannt.

Die Wasserstoff-Bildung selbst wird durch ein zweites Enzym in einer an die Pyruvat-Oxidation gekoppelten Reaktion bewirkt (66,67,70). Diese Hydrogenase, die ebenfalls in verschiedenen anaeroben Bakterien zusammen mit Pyruvat-Synthase vorkommt, kann die Uebertragung der Elektronen vom reduzierten Ferredoxin oder einem Flavodoxin-ähnlichen System auf Protonen katalysieren, wobei es zur Bildung von Wasserstoff kommt. Der Vorteil dieser Art fermentativer Pyruvat-Verwertung liegt darin, dass die Wasserstoffbilanz nicht intern ausgeglichen werden muss, da die Reduktionsäquivalente direkt in Form von Wasserstoff an die Aussenwelt abgegeben werden können.

Nach Untersuchungen von Lindmark (72) kann die im abschliessenden Schritt der Deacylierung von Acetyl-CoA auftretende freie Hydrolyse-Energie mit einer Energiekonservierung durch Substratstufen-Phosphorylierung gekoppelt werden (Abb.6). Hierfür ist das Zusammenwirken zweier Enzyme, Acetyl-CoA-Transferase (EC 2.3.1.) und Succinat-Thiokinase (EC 6.2.1.4) notwendig, wobei die Thiokinase-abhängige Reaktion ATP durch Substratstufen-Phosphorylierung liefert. Eine Phosphotransacetylierung mit gekoppelter Phosphorylierung über ein Acylat-Kinase-System, ein Mechanismus, der bei vielen Prokaryoten von grosser Bedeutung ist, konnte für die Trichomonaden nicht nachgewiesen werden (72).

In Gegenwart von Sauerstoff hält der fermentative Charakter des Trichomonaden-Stoffwechsels zwar an, verschiedene Veränderungen im Exkretionsproduktmuster zeigen jedoch, dass der Sauerstoff einen tiefgreifenden Einfluss auf dieses Stoffwechselsystem ausüben muss.

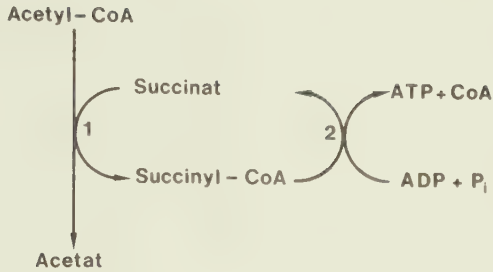


Abb.6. Acetatbildung mit gekoppelter Substratstufen-Phosphorylierung in *Tritrichomonas foetus* (nach Lindmark, 72). 1 = Acetyl-CoA-Succinat-Transferase; 2 = Succinat-Thiokinase.

Zu diesem gehören vor allem die Einstellung der Wasserstoffproduktion (73) sowie Verschiebungen des Exkretionsproduktverhältnisses zugunsten von Acetat (68). Das führt zu der Annahme, dass im Pyruvat-Synthase/Hydrogenase-System die Protonen als terminale Elektronen-Akzeptoren durch Sauerstoff verdrängt werden können (Abb.7). Der durch Aerobiose verursachte "shift" des Stoffwechsels zugunsten der Acetat-Bildung lässt vermuten, dass Sauerstoff - wahrscheinlich über eine spezifische Oxidase - wirkungsvoller als das protonenabhängige Hydrogenase-System mit der Pyruvat-Synthase-Reaktion gekoppelt

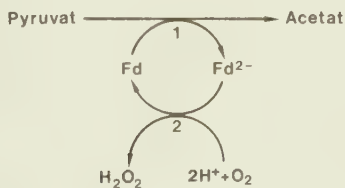


Abb.7. Mögliche Bedeutung des Sauerstoffs im energieliefernden Stoffwechsel von *Tritrichomonas foetus* (nach Müller und Lindmark, 275). Fd = Ferredoxin. 1 = Pyruvat-Synthase; 2 = terminale Oxidase.

werden kann. Der energetische Vorteil, der unter dem Einfluss von Sauerstoff für den Parasiten erreicht wird, ist evident, denn der Weg der Acetat-Bildung liefert doppelt soviel ATP-Energie wie derjenige, der zur Succinat-Bildung führt. Die relative Bedeutung der Anaerobiose und Aerobiose ist für die Trichomonaden unter den Bedingungen ihres natürlichen Lebensraumes allerdings noch nicht bekannt.

Parasitisch lebende Amöben zeigen in ihrem Stoffwechselverhalten grössere Ähnlichkeiten zu den Trichomonaden. Auch für diese Parasiten wurde die Fähigkeit zur Aufnahme und Verwertung von Sauerstoff nachgewiesen (74,75), und auch hier führt der Nährstoffabbau hauptsächlich über eine Pyruvat-Synthase-katalysierte Reaktion zur Bildung von Acetat (19). Die Kohlenstoff-Bilanz von Entamoeba histolytica zeigt uns weiterhin (23), dass der Amöbenstoffwechsel auch unter aeroben Bedingungen einen rein fermentativen Charakter besitzt. Eine vollständige Substrat-Oxidation ist somit nicht realisierbar, wofür u.a. das Fehlen eines funktionstüchtigen Tricarboxylat-Zyklus und einer Cytochrom-haltigen Atmungskette verantwortlich sind (75). CO_2 , das ebenfalls als Endprodukt auftritt, ist sicher nicht-respiratorischen Ursprungs und dürfte ausschliesslich aus den für die Aethanol- und Acetat-Fermentation notwendigen Decarboxylierungsschritten entstammen (Abb.8).

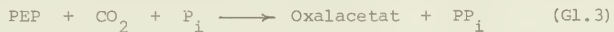
Das Atmungsenzym der Amöben ist durch eine für Parasiten ungewöhnlich hohe Affinität zum Sauerstoff charakterisiert (75). Unter aeroben Bedingungen kann mit dieser terminalen Oxidase - wahrscheinlich in Analogie zum Stoffwechsel der Trichomonaden - durch Kopplung mit der Pyruvat-Synthase-Reaktion der Pyruvat-Abbau betrieben werden. Ein experimenteller Hinweis zu dieser Vermutung liefert die Beobachtung, dass Entamoeba histolytica pro Mol verbrauchten Sauerstoffs ein Mol Acetat bildet (23) (Abb.8).

Die Amöben sind Parasitenformen mit einer besonders grossen Anzahl von spezifischen Stoffwechselleistungen, die anderen parasitischen und freilebenden eukaryotischen Organismen fehlen. Dazu gehören einige Pyrophosphat-abhängige enzymatische Reaktionen des Kohlenhydrat-abbauenden Stoffwechsels (52). Zwei dieser Enzyme sorgen für

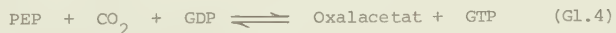
die Weiterverarbeitung des glykolytisch gebildeten PEP (Abb.8). Das eine, Pyruvat-Phosphat-Dikinase (76,77), wirkt in Analogie zur Pyruvat-Kinase (EC 2.7.1.40) der klassischen Glykolyse. Ein wesentlicher Unterschied zwischen den beiden Enzymen besteht in der Art, die ATP-Synthese zu betreiben. Während dies bei der Pyruvat-Kinase durch Phosphorylierung von ADP erreicht wird (Gl.1), dient der Dikinase von Entamoeba histolytica AMP als Akzeptor, das durch Reaktion mit Pyrophosphat in ATP übergeführt wird (Gl.2). Der Alternativweg für PEP wird durch das CO₂-fixierende Enzym Pyrophosphat-Oxalacetat-Carboxylase (EC 4.1.1.38) bestimmt (Gl.3), das ausser in Entamoeba



histolytica (77,78) bisher nur in Propionibacterium shermanii nachgewiesen wurde (79). In den Amöben dürfte dieses Enzym eine ähnliche



Stoffwechselrolle spielen wie die PEP-Carboxykinase (EC 4.1.1.32) in Trichomonaden und in vielen Helminthen (Gl.4) mit dem Unterschied, dass beim Amöben-Enzym die Energiekonservierung in der Bildung von Pyrophosphat und nicht Nucleosid-Triphosphat besteht. Zusammen mit den Enzymen Malat-Dehydrogenase (EC 1.1.1.37) und Malatenzym (EC 1.1.1.40) ergibt sich somit für die Ueberführung von PEP in



Pyruvat in Entamoeba histolytica die von Reeves (77) postulierte Stoffwechselsituation (Abb.8).

Wie aus diesem Schema zu ersehen ist, besteht eine weitere Spezifität des Amöbenstoffwechsels darin, Aethanol in einer NADP⁺-abhängigen Alkohol-Dehydrogenase-Reaktion zu bilden. Das dafür notwendige reduzierte Pyridinnucleotid könnte durch die ebenfalls NADP-spezifische Malatenzym-Reaktion bereitgestellt werden.

Ein weiteres interessantes Phänomen ist auch die Tatsache, dass Amöben in axenischen Kulturen unter anaeroben Bedingungen offenbar nicht zur Wasserstoff- und Acetat-Bildung befähigt sind (74,80). Der

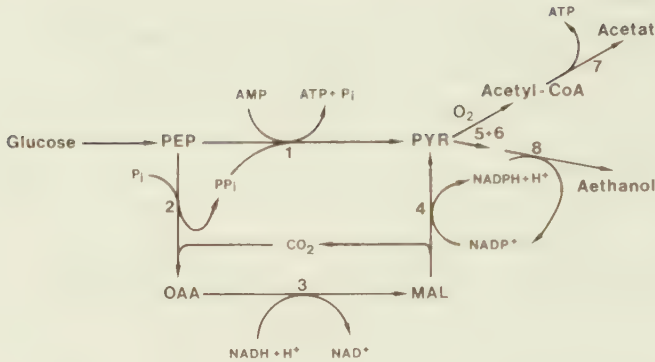
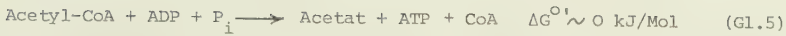


Abb.8. Wege des anaeroben und aeroben Kohlenhydrat-Abbaus in *Entamoeba histolytica* (nach Reeves, 77). 1 = Pyruvat, Phosphat-Dikinase; 2 = Pyrophosphat-Oxalacetat-Carboxylase; 3 = Malat-Dehydrogenase; 4 = Malatenzym; 5 = Pyruvat-Synthase; 6 = Acetat-Thiokinase; 7 = Alkohol-Dehydrogenase.

Grund dafür liegt im Fehlen einer Hydrogenase (74). Die anaerobe Pyruvat-Oxidation der Amöben, die in Gegenwart von Bakterien (z.B. *Bacteroides symbiosus*) kultiviert wurde, wäre demnach auf die Mitwirkung einer Hydrogenase bakteriellen Ursprungs zurückzuführen und somit nur zum Teil eine eigene Stoffwechselleistung.

In Gegenwart von Sauerstoff können auch axenisch gehaltene Amöben über das Pyruvat-Synthase-System unter Mitwirkung einer terminalen Oxidase Acetat produzieren (74, 75, 81). Als Elektronenträger für diese Reaktion dürfte hier, wie beim vergleichbaren Enzym der Trichomonaden, eine Ferredoxin-artige Verbindung fungieren. Für diese Annahme spricht u.a. der Nachweis eines Eisen-Schwefel-Proteins niedrigen Molekulargewichts in *Entamoeba histolytica* (82, 83).

Ebenfalls in Analogie zu den Trichomonaden kann in *Entamoeba histolytica* die freie Energie der Acetyl-CoA-Thioesterbindung zur Synthese von chemischer Energie ausgenutzt werden. Die Spezifität des Amöbenstoffwechsels liegt dabei in der Art des Phosphorylierungsmechanismus. Die für die Acetatbildung neuartige Reaktion wird durch das Enzym Acetat-Thiokinase (Acetyl-CoA-Synthetase, ADP-bildend) (EC 6.2.1) katalysiert (74) (Abb.5).



Der ökonomische Wirkungsgrad der Fermentierungsmechanismen der Amöben dürfte demjenigen der Trichomonaden vergleichbar sein. Auch hier führt ein über Pyruvat hinausgehender Substratabbau (Acetatbildung) zu einer gegenüber der Glykolyse erhöhten Energieausbeute. Dieses Reaktionsprinzip wird vorzugsweise in Gegenwart von Sauerstoff beschritten, in axenischen Kulturen kann es sogar nur unter diesen Bedingungen aufrechterhalten werden. Bei Anaerobiose dominiert hingegen die Aethanolfermentation, die sich, vom energetischen Standpunkt aus betrachtet, von der Glykolyse nicht unterscheidet. Die Atmung von Entamoeba histolytica führt somit zu einem energetischen Vorteil, der aufgrund der kinetischen Eigenschaften des dafür verantwortlichen Enzyms auch bei sehr niedrigen Sauerstoffpartialdrücken bestehen bleibt.

Für die Vertreter anderer Protozoengattungen sind unsere Kenntnisse über die Möglichkeit zur Energiebildung noch sehr lückenhaft. Einige wesentliche Stoffwechselprinzipien scheinen aber den meisten parasitischen Protozoen gemeinsam zu sein. Sie sind an das Leben unter anoxischen Bedingungen adaptiert und dazu befähigt, mit Hilfe von sauerstoffunabhängigen Stoffwechselprozessen die zur Aufrechterhaltung ihrer Lebensvorgänge notwendige Energie bereitzustellen. Oxidative Abbauewege von hohem ökonomischen Wirkungsgrad fehlen vielen Arten. Anstelle dessen überwiegen verschiedenartige Fermentierungen, an die z.T. sauerstoffabhängige Elektronentransportmechanismen gekoppelt sein können. Hierdurch kann häufig eine Verbesserung der ATP-Ausbeute erreicht werden, wie die vorangegangene Diskussion gezeigt hat. In einigen Arten, wie z.B. Trypanosoma cruzi und Insekten-Trypanosomatiden wurden respiratorische Systeme nachgewiesen, die denen höherer Tiere vergleichbar sind (52). Diese Parasiten können daher einen wirksameren, zu CO_2 und Wasser führenden Substratabbau durchführen, als dies den Blutstrom-Trypanosomen, Amöben und Trichomonaden möglich ist. Einzelheiten und konkrete Angaben über die Leistungsfähigkeit dieser Stoffwechseltypen können derzeit aber noch nicht gemacht werden.

4. DER ENERGIELIEFERNDE STOFFWECHSEL PARASITISCHER HELMINTHEN

Die Mannigfaltigkeit in den Mechanismen des energieliefernden Stoffwechsels ist bei den Helminthen weniger stark ausgeprägt als bei den Protozoen. Trotzdem zeigen sich auch bei diesen Parasiten deutliche Unterschiede, vor allem gegenüber ihren Wirtstieren. Obwohl alle Helminthen Sauerstoff aufnehmen, fehlen den meisten Arten wirksame oxidative Abbauwege. Unter diesen Umständen kann ein vollständiger Substratabbau nicht erreicht werden, womit das Ausmass der möglichen Dehydrierungen und damit auch der ökonomische Wirkungsgrad eingeschränkt sind. Mit anderen Worten, wir beobachten auch bei den Helminthen einen überwiegend fermentativen energieliefernden Stoffwechsel, der - ausgehend von Kohlenhydrat - mit den Reaktionen der Glykolyse seinen Anfang nimmt.

Für einige Helminthenarten wurde das vollständige Aktivitätsspektrum der Glykolyseenzyme nachgewiesen (84-86). Nach Untersuchungen von Köhler (85) bestehen zwischen den Aktivitätsmustern des Trematoden Dicrocoelium dendriticum und Rattenleber bis einschliesslich zur Stufe der Enolasereaktion nur geringfügige Unterschiede (Abb.9).

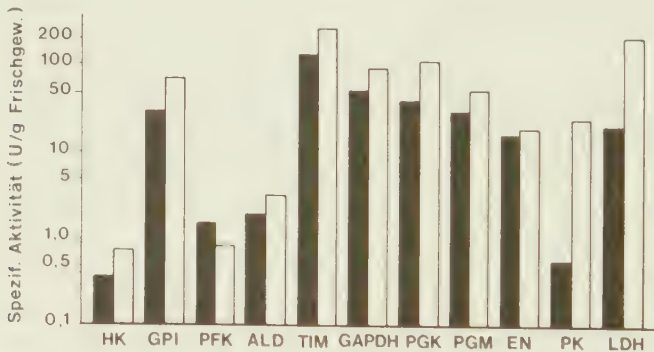


Abb.9. Spezifische Aktivitäten der Glykolyse-Enzyme von Dicrocoelium dendriticum (schwarz) und Rattenleber (weiss) (nach Köhler, 85).

Ein beträchtlich abweichendes Verhalten des Parasiten gegenüber dem Wirbeltiergewebe ist erst im unteren Glykolyseabschnitt festzustellen. Die Pyruvat-Kinase- und Lactat-Dehydrogenase-Aktivitäten liegen, bezogen auf Frischgewicht, ungefähr 40mal bzw. 10mal niedriger als in der Leber. Ähnliche Befunde sind auch von anderen Helminthen schon seit längerem bekannt, und man folgerte daraus, dass von der Stufe des PEP ab der Substratfluss aus dem Hauptweg der Glykolyse abzweigen müsse (20, 87-89).

Heute besteht kein Zweifel mehr darüber, dass die Fixierung von Kohlendioxid an PEP ein weit verbreitetes Phänomen bei parasitischen Helminthen ist (90). Obwohl heterotrophe Kohlendioxid-Assimilation für das gesamte Tier- und Pflanzenreich von grosser Bedeutung ist, scheint für die Helminthen doch eine besondere Situation vorzuliegen, die bisher nur bei wenigen anderen Invertebraten (10,12,91,92) sowie bei einigen parasitischen Protozoen (66) (vgl. Abschnitt 3) beobachtet wurde. Das Charakteristische dieser PEP-abhängigen Carboxylierung ist, dass von den verschiedenen, in lebenden Systemen vorkommenden Carboxylasen nur eine, die PEP-Carboxykinase (EC 4.1.1.32) (20,87-89, 93), an der Katalyse dieser Reaktion beteiligt ist. Die Aktivitätsgehalte des Enzyms können in Wurmparasiten relativ hohe Werte erreichen, und ihr Vorkommen scheint sich auf das Cytosol zu beschränken (20,89,94). Der K_m -Wert des Ascaris-Enzyms für PEP (94) ist erheblich niedriger als derjenige des vergleichbaren Wirbeltierenzym (95), wodurch die Reaktion in Richtung der CO_2 -Anlagerung stark begünstigt ist.

Auf der Stufe des PEP entsteht somit ein metabolischer Verzweigungspunkt, von dem aus entweder über Pyruvat eine Lactatbildung erfolgen kann oder die Glykolyse durch die Bildung von Oxalacetat direkt mit dem C_4 -Dicarbonsäurestoffwechsel verknüpft wird (Abb.10). Die regulatorischen Mechanismen, die das quantitative Verhältnis des Substratflusses durch die beiden Alternativwege bestimmen, erscheinen sehr komplexer Natur und sind offensichtlich nicht nur von endogenen Faktoren, sondern auch von physiologischen Parametern der Umgebung des Parasiten abhängig. Sicher ist, dass hohe Werte der Aktivitätsquotienten von PEP-Carboxykinase/Pyruvat-Kinase, der PEP- und Bicarbonat-

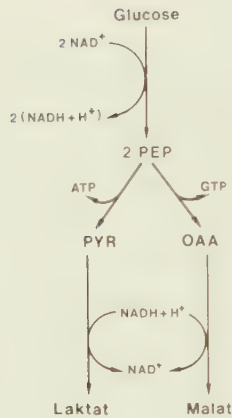


Abb.10. Glykolyse und CO₂-Fixierung in parasitischen Helminthen.

konzentrationen und des Aktivitätsgehaltes von cytoplasmatischer Malat-Dehydrogenase entscheidend dafür sind, dass die Reaktion bevorzugt in Richtung der Dicarbonsäurebildung abläuft (20,94,96,97).

Vom energetischen Standpunkt aus betrachtet sind beide metabolischen Alternativen gleichwertig. Im einen Falle führt die Substratstufen-Phosphorylierung der Pyruvat-Kinase-Reaktion und im anderen diejenige der PEP-Carboxykinase-Reaktion zur Bildung von energiereichem Phosphat (Abb.10). Das in letzterer Reaktion anfallende Guanodin- bzw. Inosintriphosphat kann durch Nucleosiddiphosphatkinase (98) in den universellen Energieträger ATP umgewandelt werden. Wie ebenfalls aus Abb.10 ersichtlich, ist die Redoxbilanz bis zur Stufe der Lactat- bzw. Malatbildung ausgeglichen, d.h. glykolytisch gebildetes NADH wird in der Lactat- bzw. Malat-Dehydrogenase-Reaktion reoxidiert.

Das Exkretionsproduktmuster parasitischer Helminthen zeigt, dass die einzelnen Arten in ganz unterschiedlichem Umfang den einen oder anderen Alternativweg bevorzugt einschlagen. Zu den Homolactatbildnern gehören u.a. Schistosoma mansoni (14) und einige Filarienarten (99-101). Andere Spezies, wie z.B. Dicrocoelium dendriticum (20,29,31), Moniezia expansa (102), Hymenolepis diminuta (103,104) und die

larvalen Stadien von Mesocestoides corti (22), scheiden neben Lactat solche Endprodukte aus, deren Entstehung sich über eine CO_2 -Fixierung an PEP ableiten lässt. Zu den Helminthenarten, die nur sehr wenig oder überhaupt kein Lactat produzieren, gehören Fasciola hepatica (15,105), Ascaris suum (106), Trichuris vulpis (107) und Haemonchus contortus (108).

Reaktionsmechanistisch ist die Lactatbildung der parasitischen Helminthen klar. Sie ist im Prinzip mit derjenigen anderer lactatbildender Organismen identisch (4,5). Hingegen sind unsere Kenntnisse über die zur Lactat-Fermentation bestehenden Alternativwege des energie-liefernden Stoffwechsels noch relativ gering.

Untersuchungen hierüber wurden vor allem an Ascaris durchgeführt (96, 109,110). Dieser Nematode ist nicht nur wegen seiner problemlosen Beschaffung, sondern auch wegen der Tatsache, dass mit seinem Haut-muskelschlauch ein leicht und in genügenden Quantitäten zugängliches Parasitengewebe zur Verfügung steht, ein weltweit geschätztes Modell der Parasitenbiochemie. Zu den anderen Helminthen, an denen ähnliche Untersuchungen durchgeführt wurden, gehören die Trematoden Fasciola hepatica (89,105,111,112) und Dicrocoelium dendriticum (20) sowie die Cestoden Hymenolepis diminuta (113) und Moniezia expansa (102, 114).

Die experimentellen Befunde lassen erkennen, dass der weitere Abbau des Kohlenstoff-Skeletts intramitochondrial erfolgt. Zu diesem Zweck muss die Permeabilitätsschranke des Mitochondrions überwunden werden. Einige Eigenschaften dieser metabolischen Barriere wurden von Köhler (115) an Muskelmitochondrien von Ascaris eingehender studiert. Demnach steht für Malat ein spezifischer Dicarboxylat-Trägertransport ("carrier system") zur Verfügung, über den dieser Metabolit im Austausch gegen andere Dicarboxylate oder anorganisches Phosphat in die mitochondriale Matrix eingeschleust werden kann.

Umfassende Untersuchungen über den Muskelstoffwechsel von Ascaris haben ergeben, dass die Alternative zum sauerstoffabhängigen Substrat-Abbau der freilebenden Tiere in diesem Helminthen hauptsächlich in einer Dismutation von Malat besteht (96,109,110) (Abb.11). Dabei

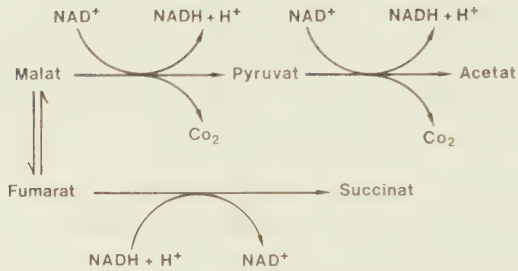


Abb.11. Die Malat-Dismutation in parasitischen Helminthen.

werden im oxidierenden Reaktionsanteil Pyruvat und CO₂ gebildet. Diese Reaktion wird durch das Enzym Malat-Dehydrogenase (decarboxylierend, EC 1.1.1.39) katalysiert, das von Saz und Hubbard (116) in Ascaris-Muskulatur entdeckt und erstmals beschrieben wurde und in neuerer Zeit von Fodge et al. (117) isoliert und gereinigt werden konnte. Das Enzym, das auch unter dem Namen Malatenzym ("malic enzyme") bekannt ist, unterscheidet sich in seiner Coenzym- und Substratspezifität vom vergleichbaren Enzym der Wirbeltiere. Bei diesen Organismen ist das Malatenzym vorwiegend im Cytosol lokalisiert, zeigt NADP-Abhängigkeit, und neben Malat kann es auch Oxalacetat decarboxylieren (119). Dagegen ist das Enzym aus Ascaris im mitochondrialen Kompartiment lokalisiert, reagiert bevorzugt mit NAD⁺ als Coenzym und ist nicht befähigt, Oxalacetat als Substrat zu verwenden. Für das Helminthenenzym bestehen somit gewisse Ähnlichkeiten zum Malatenzym bestimmter Streptococcen und höherer Pflanzen.

Im korrespondierenden Anteil der Dismutationsreaktion wird Malat via Fumarat zu Succinat reduziert, wodurch das in der Malatenzym-Reaktion verbrauchte NAD⁺ regeneriert wird. Einzelheiten dieses interessanten Reaktionsverlaufes sollen an späterer Stelle ausführlich diskutiert werden.

Erste Hinweise über metabolische Kontrollmechanismen zur Regulation der Malat-Dismutation in der Muskulatur von Ascaris wurden in jüngster

Zeit von Landsperger und Harris (119) sowie von Payne et al. (120) erhalten. Die an der Reaktion beteiligten Enzyme Malatenzym und Fumarase wurden gereinigt und ihre kinetischen und regulatorischen Eigenschaften untersucht. Es zeigte sich, dass die Dismutation des Malats einer Vielzahl von fördernden und hemmenden Wirkungen durch verschiedene Effektoren unterliegt. Malatenzym besitzt allosterische Eigenschaften, d.h. es wird durch Malat aktiviert. Positiver Effektor des Enzyms ist Fumarat, und die wichtigsten hemmenden Einflüsse werden durch bestimmte verzweigte Fettsäuren ausgeübt, die im Nematoden als metabolische Endprodukte auftreten. Fumarase wird durch ATP und NAD^+ aktiviert. Durch das Zusammenspiel all dieser und anderer Faktoren dürfte dem Ort der Malat-Dismutation eine bedeutende Rolle bei der Stoffwechselregulation in Ascaris und anderen Helminthen zukommen.

Bis zur Stufe der vorläufigen Endprodukte Pyruvat und Succinat kann der energieliefernde Stoffwechsel in Ascaris-Muskulatur somit vollständig anaerob ablaufen und die Wasserstoffbilanz bei äquimolarem Produktverhältnis ausgeglichen gehalten werden (Abb.11). Im intakten Helminthengewebe wird jedoch nur Succinat zum Teil angehäuft und ausgeschieden. Pyruvat wird vorwiegend zu Acetat decarboxyliert (Abb.11), das seinerseits ausgeschieden oder für die reduktive Synthese von höheren flüchtigen Säuren verwendet wird. Die Eigenschaften der Wege, die für die Bildung der flüchtigen Fettsäuren verantwortlich sind, sowie ihre Bedeutung für den Energiehaushalt und die Aufrechterhaltung des Redoxgleichgewichts der Zelle, wird an anderer Stelle noch ausführlicher abgehandelt.

Untersuchungen über die Natur und Zusammensetzung der metabolischen Endprodukte anderer parasitischer Helminthen haben schon seit langem zur Annahme geführt, dass das zentrale Abbauprinzip für Kohlenhydrate bei vielen Arten gleich sein müsse. Eingehendere biochemische Untersuchungen haben inzwischen bestätigt, dass die Glykolyse in vielen Helminthen durch CO_2 -Fixierung mit dem Dicarbonsäure-Stoffwechsel verbunden und die Bildung von Succinat und flüchtigen Fettsäuren häufig durch eine Dismutation von Malat bewirkt wird (4,5,7,20,89, 96,102,109,113,114).

Die Kenntnisse, die uns heute über den Stoffwechsel von Helminthen zur Verfügung stehen, lassen jedoch Verallgemeinerungen bis ins Detail sicher nicht zu. Mehr oder weniger grosse Abwandlungen des für Ascaris gültigen Schemas können allein schon aus der unterschiedlichen Zusammensetzung der aus dem Malat entstammenden Endprodukte abgeleitet werden. Häufig beruht dies nur auf einem abweichenden quantitativen Verhältnis der Metabolitflussraten durch die verschiedenen Stoffwechsel-Endstrecken. Bei einzelnen Arten sind aber auch spezielle Mechanismen im Bereich der terminalen Abbauwege verwirklicht worden, die zur Bildung besonderer Endprodukte, wie Propanol (108) oder höheren flüchtigen Fettsäuren (121,122) führen.

Aus enzymologischen Untersuchungen geht ausserdem hervor, dass in manchen Fällen für das Erreichen eines gemeinsamen metabolischen Zieles unterschiedliche enzymatische Mechanismen eingesetzt werden. So verfügen Ascaris (116), Dicrocoelium dendriticum (20) und Spirometra mansonoides (123) für die Generierung von intramitochondrialen Reduktionsäquivalenten über ein NAD^+ -abhängiges Malatenzym. In Hymenolepis diminuta (93,124,125) wird diese Reaktion dagegen durch ein NADP^+ -abhängiges Enzym katalysiert und in einem anderen Cestoden, Moniezia expansa, scheint dieses Enzym ganz zu fehlen (126). Die Reoxidation von NADPH kann in Hymenolepis diminuta nach vorangegangener Transhydrogenierung wie bei anderen Helminthen über die mitochondrialen Elektronentransport-Mechanismen erreicht werden (125,127). In Moniezia expansa bedingt das Fehlen von Malatenzym eine grössere Modifikation des Malat-verwertenden Stoffwechsels. Die Reduktionsäquivalente, die für die Bildung des Succinats, das auch in diesem Wurm als hauptsächliches Abbauprodukt des Kohlenhydratstoffwechsels auftritt, notwendig sind, entstammen wahrscheinlich dem Aminosäure-Stoffwechsel. Nach neuesten Untersuchungen (126) könnte dabei Glutaminsäure eine besondere Rolle spielen, die über Transaminierung und einige Reaktionen des Citrat-Zyklus zu Succinat oxidiert werden kann. Die in Moniezia expansa vorliegende Abwandlung des succinatbildenden Stoffwechselweges (vgl. dazu Abschnitt 4.1.) stellt eine Anpassung des Parasiten an die physiologischen Gegebenheiten des Wiederkäuer-Darmes dar, der nur geringe Kohlenhydratmengen, aber höhere

Konzentrationen verschiedener Aminosäuren enthält (126). Die Bedeutung der Aminosäuren für den energieliefernden Stoffwechsel parasitischer Helminthen scheint somit zumindest für bestimmte Arten grösser zu sein als ursprünglich angenommen wurde (vgl. Abschnitt 4.6.).

4.1. Succinatbildung und anaerober Elektronentransport

Eine bemerkenswerte Tatsache ist, dass sich die Bildung des Succinats und der Verbindungen, die sich von diesem ableiten, im wesentlichen durch Umkehr der letzten Schritte des Citratzyklus vollzieht (Abb. 10 und 11).

Die Spezifität der Succinatbildung scheint dabei in der Eigenschaft der Succinat-Dehydrogenase zu liegen, bevorzugt als Fumarat-Reduktase zu wirken (128-131). Es bestehen jedoch auch Hinweise darauf, dass die Fumarat-Reduktase der Helminthen ein von Succinat-Dehydrogenase verschiedenes Enzym ist (111, 132-135), in dem Cytochrom o oder spezifische b-Typ Cytochrome als Elektronenüberträger wirken, und selbst für Ascaris gehen die Meinungen verschiedener Autoren in der Frage der Identität dieses Enzyms noch auseinander (7, 136). Da die Bildung des Succinats ein biologisch ausserordentlich bedeutsamer Teil des energieliefernden Stoffwechsels von Helminthen ist, soll sie daher auch ein wesentlicher Gegenstand der folgenden Ausführungen sein.

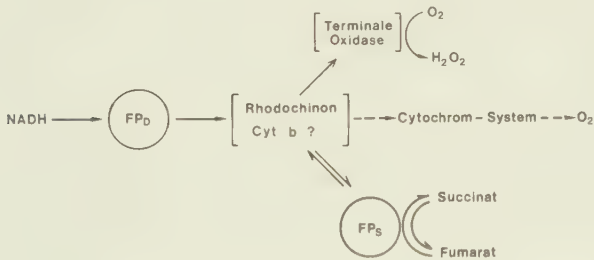


Abb. 12. Succinatbildung und Sauerstoffverwertung in den Muskelmitochondrien von Ascaris suum (nach Köhler und Bachmann, 131). Unterbrochene Pfeile bedeuten Wege von geringer physiologischer Bedeutung. FP_d und FP_s = Flavoproteine der NADH- bzw. Succinat-Dehydrogenase.

Nach unseren experimentellen Erfahrungen und den Untersuchungen anderer Autoren ist das in Ascaris-Muskulatur zur Succinatbildung führende Reaktionssystem ein an die Mitochondrien-Membran gebundener enzymatischer Komplex, der in seiner Zusammensetzung und seinen Eigenschaften Ähnlichkeiten zu dem Komplex I und II umfassenden Teilstück der klassischen Atmungskette zeigt (128,131,127) (Abb.12, Tab.III, vgl. dazu auch Abb.2). Das System umfasst damit vor allem die beiden flavinhaltigen Enzymsysteme NADH-Dehydrogenase (EC 1.6.99.2), durch die das Donorsubstrat NADH reoxidiert wird, und Succinat-Dehydrogenase (EC 1.3.99.1), die mit dem Elektronen-Akzeptor Fumarat als terminale Reduktase wirkt. Eine Besonderheit der primären Dehydrogenase liegt offenbar in der Natur der Flavinkomponente. Im Gegensatz zum FMN-haltigen Enzym der konventionellen Atmungskette scheint im Helminthen-System FAD Elektronenträger zu sein (128).

Tab.III

Enzymaktivitäten der mitochondrialen Elektronentransport-Systeme von Ascaris-Muskulatur und Rattenleber (Köhler und Bachmann, 131).

Donor → Akzeptor-System	Spezifische Enzym-Aktivitäten *	
	<u>Ascaris</u> -Muskulatur	Rattenleber
NADH → O ₂	229.1	367.6
NADH → FeCN ₆	8'322.4	6'026.5
NADH → CoQ ₂	364.3	111.4
NADH → Fumarat	212.7	9.4
NADH → Fumarat + O ₂	264.4	-
CoQ ₂ H ₂ → Cytochrom c	30.6	620.9
NADH → Cytochrom c	317.7	847.2
Cytochrom c _{red.} → O ₂	2.4	1'007.0
Succinat → O ₂	144.1	227.8
Succinat → FeCN ₆	611.2	112.3
Succinat → Cytochrom c	166.9	5.7

* nMol Substrat/min pro mg Protein (submitochondriale Partikel).

In Analogie zum klassischen ETS kann NADH-Dehydrogenase die Reduktionsäquivalente auf bestimmte Chinone übertragen (Tab.III). Diese Reaktion ist durch Rotenon hemmbar (137), eine Eigenschaft, die die Ähnlichkeit zur NADH-Ubichinon-Reduktase der Mitochondrien höherer Tiere deutlich macht. Die Tatsache, dass auch die NADH-abhängige Fumarat-Reduktion in Ascaris-Mitochondrien empfindlich durch Rotenon gehemmt wird (131,138), liefert uns einen wichtigen Hinweis für die Beteiligung des NADH-Dehydrogenase-Segmentes an der Gesamtreaktion.

Der überzeugende Hinweis für die Mitwirkung eines chinoiden Redoxsystems am mitochondrialen Elektronentransport von Ascaris wurde aus Rekonstitutionsversuchen mit dem Succinat-Oxidase-System erhalten. Sato und Mitarbeiter (139) konnten nachweisen, dass die nach Aceton-Extraktion verlorengegangene Fähigkeit von Ascaris-Mitochondrien, Succinat zu oxidieren, nach Reinkorporation von Rhodochinon 9 zurückgewonnen werden kann. Das weit verbreitete Ubichinon führte in Parallelversuchen nur zu einer geringfügigen Aktivierung des Systems. In der Beteiligung von Rhodochinon am mitochondrialen Elektronentransport liegt somit eine weitere Besonderheit des Helminthen-Stoffwechsels.

Wie in Abb.12 schematisch dargestellt, werden die Reduktionsäquivalente vom NADH mittels der flavinabhängigen NADH-Dehydrogenase auf Rhodochinon übertragen. Dieses wirkt seinerseits als Elektronen-Donor für Succinat-Dehydrogenase, wodurch die Reduktion von Fumarat zu Succinat möglich wird. Ob an diesem Prozess auch Cytochrome vom b-Typ beteiligt sind, ist bisher noch unklar.

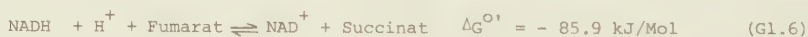
Für andere Helminthen sind die Vorgänge, die sich bei der Succinatbildung abspielen, weit weniger bekannt als für das Ascaris-Modell, sie dürften in vielen Fällen aber in derselben oder ähnlichen Weise ablaufen. Auf die Besonderheiten der Succinatbildung in Moniezia expansa wurde bereits hingewiesen. In manchen Fällen dürfte Rhodochinon anstelle von Ubichinon am Elektronentransport mitwirken (140). Es wurde auch erwähnt, dass die Fumarat-Reduktion möglicherweise durch ein Cytochrom o- oder Cytochrom b-abhängiges Reaktionssystem

katalysiert werden kann. Spektroskopische Untersuchungen haben ergeben, dass diese in den Mitochondrien verschiedener Helminthen enthaltenen Elektronenträger durch Fumarat reduziert werden können (134, 135). Die endgültige Entscheidung über die Frage nach der Identität der Fumarat-Reduktase in parasitischen Helminthen kann aber mit Sicherheit erst nach Isolierung und Reinigung der enzymatischen Aktivität gefällt werden.

Da die Succinatbildung der Helminthen mechanistisch dem mitochondrialen Elektronentransport freilebender Tiere vergleichbar ist, wäre sie demnach weniger ein Gärungsvorgang, als vielmehr eine spezielle Art der anaeroben Atmung.

Wie Abb.12 zeigt, ist über einen Teil des ETS von Ascaris unter Hinzunahme einer spezifischen terminalen Oxidase auch eine Reaktion mit Sauerstoff möglich, wofür sowohl NADH-abhängige Substrate (z.B. Malat) wie auch Succinat als Elektronen-Donoren dienen können. Die Reaktionsraten der gekoppelten Oxidoreduktion zwischen NADH und Fumarat zeigte jedoch in allen bisherigen Untersuchungen höhere Werte als diejenigen zwischen Succinat und Sauerstoff (128,131,140), ein überzeugender Hinweis auf die ausgeprägt reduzierende Wirkung der Succinat-Dehydrogenase des Helminthen.

Im Wirbeltier-Mitochondrion liegen die Verhältnisse umgekehrt. Obwohl eine ETS-katalysierte NADH-Fumarat-Reduktase-Reaktion thermodynamisch begünstigt ist (Gl.6), tritt diese Reaktion unter normalen physiologischen Verhältnissen nicht in Funktion, denn die Spezifität des



Wirbeltier-ETS liegt darin, durch Kopplung der Succinat-Dehydrogenase-Reaktion mit dem Cytochrom-System den Elektronenfluss in Richtung einer Succinat-Oxidation zu führen. Dafür sind neben den spezifischen Eigenschaften der Succinat-Dehydrogenase diejenigen der Cytochrome, insbesondere die Lage ihrer Reduktions-Oxidations-Potentiale und die hohe Affinität der Cytochromoxidase zum Sauerstoff, verantwortlich. Unter geeigneten experimentellen Bedingungen kann allerdings eine Fumarat-Reduktion auch im Wirbeltier-ETS erreicht werden (142,143).

Die Geschwindigkeit dieser Reaktion ist unter den für das Helminthen-System gültigen Testbedingungen jedoch ausserordentlich gering (Tab.III).

Nach Gl.6 liefert die NADH-abhängige Fumarat-Reduktion genügend freie Energie, um eine ATP-Synthese zu gewährleisten. Untersuchungen über die Phosphorylierungseigenschaften von Ascaris-Mitochondrien haben inzwischen ergeben, dass die Succinatbildung - wie unter spezifischen experimentellen Bedingungen in Wirbeltiermitochondrien (142,143) - mit einer Synthese von ATP gekoppelt werden kann (131,138,141,144-147). Dabei wird ein Mol ATP pro Mol verbrauchtem NADH gebildet. In Analogie zur klassischen respiratorischen Sequenz dürfte diese Energie-Konservierung mit der Reduktion von Chinon durch NADH verknüpft sein. Sie liegt vor dem Hemmbereich des Rotenons (138,145) und entspricht somit dem Kopplungsbezirk ("site")I des konventionellen mitochondrialen ETS. Die Art der Phosphorylierung ist eindeutig einer an Elektronentransport gebundenen zuzuordnen. Dafür sprechen ihre Empfindlichkeit gegen entkoppelnde Agenzien und Oligomycin (138,145-147), sowie die Tatsache, dass sie an die Intaktheit des mitochondrialen Membransystems gebunden ist (141).

Unter Verwendung von NADH-abhängigem Substrat (z.B. Malat), liegen die Phosphorylierungsaktivitäten der Ascaris-Mitochondrien in einem für Rattenleber-Mitochondrien vergleichbaren Bereich (146,148), wenn man berücksichtigt, dass am Phosphorylierungsprozess des Helminthen-Systems hauptsächlich nur ein Kopplungsbezirk beteiligt ist. Diese Annahme ist sicher für anaerobe Reaktionsbedingungen zutreffend. Der mögliche Einfluss des Sauerstoffs auf die Elektronentransport-gekoppelte Phosphorylierung soll in den folgenden Abschnitten ausführlich diskutiert werden.

4.2. Sauerstoffabhängige Elektronentransport-Systeme

Die bisherige Diskussion lässt erkennen, dass adulte Ascariden und wahrscheinlich auch die Mehrzahl der anderen parasitisch lebenden Helminthen chemische Energie vorwiegend durch anaerobe Stoffwechselvorgänge bereitstellen. Andererseits ist bekannt, dass alle bisher untersuchten Helminthen Sauerstoff in vitro aufnehmen. Da den meisten

parasitischen Helminthen auch in ihrer natürlichen Umgebung Sauerstoff zur Verfügung steht (4,5,97,149), stellt sich zwangsläufig die Frage nach seiner Bedeutung für den energieliefernden Stoffwechsel dieser Organismen.

In den meisten freilebenden Tieren ist Sauerstoff an der entscheidenden energieliefernden Reaktion beteiligt. Die Funktion des Sauerstoffs besteht hier darin, Elektronen von reduzierten Coenzymen via mitochondriale Atmungskette aufzunehmen. Dabei wird eine beträchtliche Menge freier Energie abgegeben, die zur Synthese von ATP ausgenutzt werden kann. Auf diese Weise können nach Passage von 2 Elektronen durch alle drei Kopplungsbezirke der Atmungskette ("sites" I, II und III) 3 Moleküle ATP konserviert werden (vgl. Abb.2).

Inbezug auf die Wirkung des Sauerstoffs auf den energieliefernden Stoffwechsel der Helminthen ergeben sich deutliche Parallelen zur Situation des Protozoenstoffwechsels. Auch bei den Helminthen führt in vielen Fällen der Wechsel von anaeroben zu aeroben Inkubationsbedingungen zu einer quantitativen, teilweise sogar zu einer qualitativen Veränderung in der Zusammensetzung der Stoffwechsel-Endprodukte (4,5) (Tab.II). Das metabolische Gleichgewicht des Parasiten kann somit durch Sauerstoff beeinflusst und verändert werden. Wie bei allen aeroben Lebewesen sind die Gründe dafür in der Zellatmung des Parasiten selbst zu suchen, die ein Redoxprozess ist, durch den letztlich reduzierte Coenzyme reoxidiert werden können. Beim Wechsel von anaeroben zu aeroben Stoffwechsel-Bedingungen werden dadurch organische Verbindungen als Akzeptoren für Reduktionsäquivalente zumindest zum Teil verdrängt. Als Folge davon ergibt sich eine Veränderung des Exkretionsproduktmusters in dem Sinne, dass die Ausscheidungsrate von Verbindungen, die über reduktive Prozesse gebildet werden, wie z.B. Succinat und Propionat, zurückgeht. Die Produktion von Exkreten, die mit der Bildung von reduzierten Coenzymen verknüpft ist, wie z.B. Acetat, bleibt dagegen nach Zutritt von Sauerstoff unbeeinflusst oder nimmt zu.

Dies steht mit unseren experimentellen Erfahrungen in Einklang. Tetrathyridien von Mesocostoides corti scheiden unter anaeroben Bedingungen mit Glucose als Substrat grosse Mengen Succinat aus, in

Gegenwart von Sauerstoff konnten hingegen nur noch Spuren dieser Verbindung nachgewiesen werden (22). Aehnlich ist die Situation bei Dicrocoelium dendriticum (20,29) und Hymenolepis diminuta (104). Ist Sauerstoff zugegen, so wird bei diesen Parasiten die Propionat- bzw. Succinatbildung im Vergleich zur Anaerobiose drastisch reduziert. Bei Fasciola hepatica wurde eine deutliche Abnahme der Propionat-Produktion allerdings erst bei sehr hohen Sauerstoffdrucken beobachtet (150). Schliesslich ist von der Filarienart Litomosoides carinii bekannt, dass der Wechsel von anaeroben zu aeroben Bedingungen mit einem starken Anstieg der Acetatbildung verbunden ist (27,100).

Die geschilderten Beobachtungen führen zu folgenden Fragen: 1. Welche Mechanismen sind für die Verwertung des Sauerstoffs verantwortlich? 2. Worin besteht die biologische Bedeutung des Sauerstoffs für den Parasiten? und 3. Resultiert aus einer möglichen sauerstoffabhängigen Synthese von chemischer Energie gegenüber der Anaerobiose ein energetischer Vorteil für den parasitischen Organismus?

Der Verbrauch von Sauerstoff durch parasitische Helminthen ist vorwiegend auf die Aktivität spezifischer, in den Mitochondrien dieser Organismen lokalisierten Oxidasen zurückzuführen. Die heutigen Vorstellungen über die Natur dieser sauerstoffabhängigen Oxidationswege sind jedoch noch unklar. Sicher ist jedoch, dass, trotz gewisser Uebereinstimmungen, von den verschiedenen Arten unterschiedliche terminale Oxidationswege entwickelt wurden.

Hinweise darauf liefern u.a. Versuche über Effekte spezifischer ETS-Inhibitoren auf die mitochondriale Atmung. Eine sehr häufig zu beobachtende Eigenschaft ist dabei die völlige oder teilweise Unempfindlichkeit der sauerstoffverbrauchenden Oxidationsprozesse gegenüber Hemmstoffen des klassischen Cytochrom-Systems (4,5). So kann z.B. der durch NADH- oder Succinat-Oxidation bedingte Sauerstoffverbrauch von Ascaris-Muskelmitochondrien durch Antimycin oder Cyanid nicht beeinflusst werden (Abb.13a). Dagegen bewirkt Cyanid eine deutliche Reduktion der Succinat-Oxidation in Mitochondrien von Hymenolepis diminuta (Abb.13b) und eine partielle Hemmung der NADH-Oxidation in den vergleichbaren Organellen von Mesocestoides corti-Tetrathyridien (151).

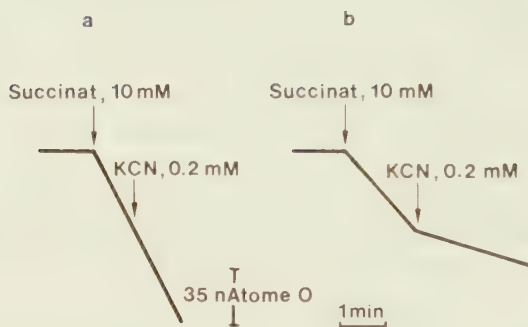


Abb.13. Die Wirkung von Cyanid auf die Succinat-Oxidation in Mitochondrien aus *Ascaris*-Muskulatur (a) und *Hymenolepis diminiuta* (b) (Köhler und Bachmann, unveröffentlicht).

Eine weitere Eigenschaft der terminalen Oxidasen parasitischer Helminthen ist ihre in vielen Fällen zu beobachtende ausgeprägte Abhängigkeit vom Sauerstoffpartialdruck der Umgebung (4,5). Der K_m -Wert für das *Ascaris*-Enzym liegt bei 43 mM bzw. 88 mM O_2 bei Verwendung von NADH bzw. Succinat als Substrat (128). Bemerkenswert ist weiterhin, dass die Reaktion dieser Oxidase-Systeme häufig zur Bildung von Wasserstoffperoxid führt (152,153). Diese Befunde stehen in krassem Gegensatz zu unseren Kenntnissen über die Eigenschaften der Atmungskette höherer Tiere. Die terminale Oxidase dieses Systems, Cytochrom-Oxidase, besitzt eine grosse Bindungsfähigkeit zum Sauerstoff, sie ist durch Cyanid vollständig hemmbar, und ihre Reaktion endet mit der Bildung von Wasser.

Inhibitorversuche lassen nur unsichere Schlüsse auf die Zusammensetzung und Funktionsweise von respiratorischen Sequenzen zu. Mehr Informationen über die ETS parasitischer Helminthen haben spektroskopische Verfahren und Enzymaktivitätsmessungen ergeben. Dabei wurden neben Flavoproteinen

vor allem Cytochrome vom b-, c-, a- und o-Typ nachgewiesen (135, 154-159). Die Natur dieser Cytochrome ist zum Teil atypisch (159, 160) und die Gehalte einzelner Komponenten in den Helminthen-

Tab. IV

Cytochrom-Gehalte der Mitochondrien von parasitischen Helminthen und Wirbeltiergeweben

Cyt	<u>Ascaris</u> -Muskel ^a	<u>Fasciola</u> <u>hepatica</u> ^b	<u>Moniezia</u> <u>expansa</u> ^a	Niere ^c	Herz ^c
nMol/mg Protein					
b	0.073	0.093	0.120	0.51	0.76
c ₁		0.111		0.19	0.39
c	0.089	0.096	0.139 ^a	0.51	0.44
aa ₃	0.003	0.036	0.064	0.56	0.98
o	0.012	0.136 ^d	0.331		

^a Nach Cheah (135). ^b Nach Cheah und Prichard (158). ^c Nach Williams (174), die angegebenen Gewebe beziehen sich auf die Ratte. ^d Cyt b₅₅₇ einbezogen. ^e Cyt c₁ einbezogen.

Mitochondrien sind häufig sehr gering (Tab. IV). Trotz des bereits recht umfangreichen Datenmaterials können zum augenblicklichen Zeitpunkt noch für keine Helminthenart genauere Angaben über Zusammensetzung, Eigenschaften und Funktionsweise ihres mitochondrialen ETS gemacht werden. Die Ansichten gehen zur Zeit dahin, dass in manchen Arten, wie z.B. Trichinella-Larven (161), der respiratorischen Tätigkeit eine dem klassischen Muster folgende Atmungskette zugrunde liegt, in anderen wiederum, wie z.B. Ascaris (128, 137, 159) (Abb.12), Moniezia expansa (132), Taenia hydatigena (133), Taenia taeniaeformis (162) oder Fasciola hepatica (111, 158), sind zwei oder mehr terminale Oxidationswege vorhanden, wovon ein Weg Ähnlichkeiten mit der Atmungskette der höheren Tiere besitzen könnte.

Die zum klassischen ETS bestehenden Alternativen könnten in Cytochrom o- oder b-, Flavoprotein- oder Nicht-Häm-Eisen-enthaltenden Oxidationswegen bestehen. Sind zwei oder mehr Oxidasen vorhanden, dann stellt sich die Frage, ob diese eine verzweigte Anordnung mit einem gemeinsamen Anfangsteil zeigen oder ob es sich dabei um parallel geschaltete, benachbart lokalisierte aber strukturell voneinander unabhängige Systeme handelt. In manchen Fällen scheint Ubichinon (133), in anderen Rhodochinon (139) oder sogar Phyllochinon (132, 162) als mobiler Elektronenträger zwischen Flavoproteinen und Cytochromen zu fungieren.

Trotz grösserer experimenteller Anstrengungen ist auch für Ascaris die Frage nach den Mechanismen der sauerstoffabhängigen Oxidationswege noch völlig offen. Kmetec und Bueding (128) führen aufgrund des charakteristischen Verhaltens der Oxidase gegenüber Sauerstoff, Atmungsketten-Inhibitoren und Mn^{2+} sowie des Auftretens von Wasserstoffperoxid als Reduktionsprodukt die Reaktion auf eine Flavoprotein-Katalyse zurück. Cheah (135, 159) vertritt dagegen die Meinung, dass Cytochrom o das wesentliche terminale Redoxsystem der Nematoden-Mitochondrien darstellt.

Der Nachweis anderer Cytochrome in Ascaris-Muskelmitochondrien hat die Vorstellung von einem zweiten, der Atmungskette höherer Tiere ähnlichen Oxidationsweg entstehen lassen. Die Anwesenheit von Cytochrom c und verschiedener Cytochrome des b-Typs in Ascaris ist schon seit langem unbestritten (154, 156, 163). Es gelang jedoch erst kürzlich, auch die Cytochrome c_1 und aa_3 eindeutig nachzuweisen (159). Chance und Parsons (154) beschreiben das Tieftemperatur-Spektrum der Cytochrome von Ascaris-Muskelmitochondrien als erheblich abweichend von demjenigen des klassischen Cytochromsystems. Sie fanden keine eindeutigen Hinweise für die Präsenz von Cytochrom-Oxidase und Cytochrome c_1 und schätzten den Gehalt dieser Komponenten auf weniger als 5% desjenigen von Cytochrom c. Hayashi und Mitarb. (157) berichteten kürzlich vom Vorhandensein eines c_1 -ähnlichen Cytochroms und Spuren von Cytochrom aa_3 in Ascaris. Die eindeutige Präsenz und Funktionstüchtigkeit eines dem klassischen Muster weitgehend entsprechenden Cytochrom-Systems in Ascaris wurde durch An-

wendung empfindlicher spektroskopischer Verfahren von Cheah (159) nachgewiesen. Grössere quantitative und geringere qualitative Unterschiede zur konventionellen respiratorischen Sequenz bleiben jedoch evident. Cytochrom c_1 scheint nur in Spuren vorzukommen, und die Cytochrom-Komponenten aa_3 weisen, verglichen mit ihren Konzentrationen in Mitochondrien freilebender aerober Organismen sowie auch relativ zur b- und c-Cytochrom-Fraktion des Parasitengewebes, ausserordentlich geringe Gehalte auf (Tab.IV).

Dagegen liegen die Konzentrationen der b-Komplex-Cytochrome und des Cytochrom c in einem zu den Wirbeltier-Cytochromgehalten vergleichbaren Bereich (Tab. IV). Durch spektroskopische Untersuchungen und potentiometrische Redoxtitration konnte die Anwesenheit von mindestens drei verschiedenen b-Cytochromen in Ascaris-Mitochondrien nachgewiesen werden, von denen keines in seinen Eigenschaften mit denen der mitochondrialen b-Typ Cytochrome der Säugetiergewebe übereinstimmt (159, 160). Das Ascaris-Cytochrom b_{560} wurde von Cheah (160, 164) aus dem Muskelgewebe des Nematoden isoliert und gereinigt. Es ist ein neuartiges, autoxidables, basisches Hämoprotein, das keine Bindungsfähigkeit zu CO und keine Peroxidase-Aktivität zeigt. Die leichte Extrahierbarkeit dieser Verbindung lässt vermuten, dass sie im Gegensatz zu den anderen mitochondrialen b-Typ Cytochromen entweder auf der Aussenseite der inneren Membran oder im Inter cristall-Kompartiment des Mitochondrions lokalisiert ist. Ihre physiologische Bedeutung ist bisher unbekannt.

Ebenfalls isoliert und rein dargestellt wurde das Cytochrom c von Ascaris (165). Die Eigenschaften dieses Hämoproteins scheinen mit denen des Cytochroms c der höheren Tiere weitgehend identisch zu sein.

Nach Cheah (159) sind die Komponenten des sauerstoffabhängigen ETS der Ascaris-Muskelmitochondrien in einer verzweigten Anordnung mit mindestens zwei verschiedenen terminalen Oxidasen organisiert. Das eine System dürfte weitgehend der klassischen Atmungskette mit Cytochrom-Oxidase als terminalem Enzym entsprechen. Unterschiede scheinen vor allem im Vorhandensein besonderer b-Cytochrome und den sehr geringen Gehalten an Cytochrom c_1 und aa_3 zu liegen (vgl. dazu Tab.IV).

Nach Ansicht desselben Autors (159) ist der Alternativweg durch eine

Cytochrom o-abhängige terminale Oxidase repräsentiert, deren Reaktion mit Sauerstoff zur Bildung von Wasserstoffperoxid führt. Unter Verwendung des ETS-Inhibitors o-Hydroxydiphenyl ergaben polarographische und spektroskopische Untersuchungen, dass die Succinat-Oxidation in Ascaris hauptsächlich über den H_2O_2 -bildenden, Cyanid- und Antimycin-unempfindlichen Weg führen müsse (159). Der relative Anteil der beiden alternativen Oxidations-Systeme am Gesamtprozess wurde in diesen Untersuchungen mittels Katalase und durch Antimycin-Titration polarographisch ermittelt. Demnach sollen 70-80% des Succinat-abhängigen Sauerstoffverbrauchs auf die durch Cytochrom o katalysierte Oxidation und etwa 20-30% davon auf die Wirkung des konventionellen ETS mit Cytochrom-Oxidase als terminalem Enzym entfallen. Aus den erwähnten Experimenten geht ausserdem hervor, dass der Verzweigungspunkt des ETS auf der Stufe der b-Komplex-Cytochrome liegen dürfte.

Eigene experimentelle Erfahrungen mit dem Helminthen-Oxidase-System haben die Ergebnisse von Cheah bestätigen können, dass eine dem klassischen Muster folgende Elektronentransport-Sequenz in Ascaris in geringem Umfang funktionstüchtig ist (vgl. Kap. 4.4). Der Hauptanteil der respiratorischen Tätigkeit des Nematoden-Mitochondrions fällt jedoch ohne Zweifel dem alternativen Oxidase-System zu. Dafür sprechen die folgenden Befunde: 1. Das Oxidase-System ist mit geringen Konzentrationen von Cyanid und Antimycin nicht hemmbar (Abb. 13a). 2. H_2O_2 ist das überwiegende Endprodukt der Sauerstoff-Reduktion. 3. Die spezifische Aktivität der Cytochrom-Oxidase in Ascaris-Mitochondrien ist extrem niedrig (Tab. III). Der Gehalt dieses Enzyms ist etwa 40mal geringer als der für NADH-Oxidase des Parasiten und etwa 200mal niedriger als der für Cytochrom-Oxidase von Rattenleber-Mitochondrien. 4. Intakte Ascaris-Mitochondrien sind nicht dazu befähigt, in einer Antimycin-unempfindlichen Reaktion Elektronen von Succinat auf Ferricyanid zu übertragen (166) (Abb. 14). Für Wirbeltier-Mitochondrien gilt diese Reaktion als Beweis für die

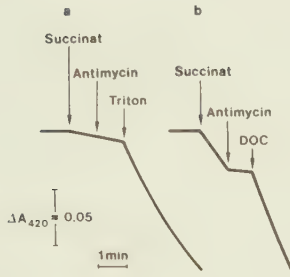


Abb.14. Succinat-Oxidation durch Ferricyanid in intakten Mitochondrien aus *Ascaris*-Muskulatur (a) und Rattenleber (b) (nach Köhler, 1966). DOC = Desoxycholat.

Funktionstüchtigkeit der Succinat-Cytochrom c-Reduktase (167). Im physiologisch intakten Mitochondrion werden dabei unter Vermittlung des Cytochrom b/c₁-Komplexes Elektronen vom Succinat via Cytochrom c auf den artifiziellen Elektronen-Akzeptor Ferricyanid übertragen. Zu dieser enzymatischen Leistung sind die Parasiten-Organellen nicht befähigt, wie Abb. 14 zeigt. Die Erklärung könnte darin liegen, dass eine dem Atmungsketten-Komplex III entsprechende Komponente nicht vorhanden ist oder dieses Enzym aufgrund bestimmter anderer Eigenschaften einen Elektronen-Transport von Succinat-Dehydrogenase auf Cytochrom c nicht katalysieren kann. In diesem Zusammenhang sei nochmals auf den vergleichsweise sehr geringen Gehalt von Cytochrom c₁ in *Ascaris*-Mitochondrien verwiesen (Tab. IV).

Unter Berücksichtigung der oben und in den vorangegangenen Abschnitten angeführten Befunde kann für das *Ascaris*-Oxidase-System das in Abb. 12 dargestellte Schema postuliert werden. Der biologisch bedeutsame Teil dieses respiratorischen Systems dürfte in der Fumarat-abhängigen NADH-Oxidation sowie in der Elektronenübertragung vom NADH auf Sauerstoff über die spezifische Cyanid-unempfindliche Oxidase liegen.

Da sich die Aktivitäten der NADH-Oxidase und NADH-Fumarat-Reduktase nicht additiv verhalten (131) (Tab. III), dürfte der geschwindigkeitsbestimmende Schritt für diese Reaktionen vor dem Verzweigungs-

punkt, eventuell auf der Stufe der b-Typ-Cytochrome, liegen. Für einige andere Helminthen scheint die Fumarat-reduzierende Aktivität eine Eigenschaft der Cytochrom o-haltigen Oxidase zu sein. Für das Ascaris-System haben Untersuchungen von Köhler und Bach-

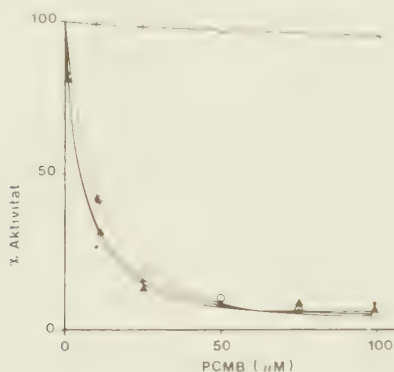


Abb.15. Die Wirkung von PCMB auf verschiedene Elektronentransport-Aktivitäten von Ascaris-Muskelmitochondrien (nach Köhler und Bachmann, 1931). +, NADH-Oxidase; o, NADH-Fumarat-Reduktase; ▲, Succinat-Dehydrogenase; ●, Succinat-Oxidase.

mann (1931) ergeben, dass die Charakteristik der PCMB-Hemmung für Fumarat-Reduktase und Succinat-Dehydrogenase praktisch identisch ist (Abb. 15). Die Succinat-dehydrogenierenden und Fumarat-reduzierenden Eigenschaften des Ascaris-ETS könnte somit Ausdruck der Aktivität eines einzigen Enzyms sein.

Die respiratorischen Systeme anderer Helminthen fanden bisher weit weniger Beachtung als dasjenige von Ascaris. Die Beteiligung mehrerer Oxidasen am Elektronentransport ist aber offenbar weit verbreitet. In einer grösseren Anzahl Helminthen wurden b-, c-, a- und o-Typ-Cytochrome nachgewiesen (Tab. IV). Eine Beurteilung der möglichen physiologischen Bedeutung dieser Cytochrome für parasitische Helminthen ist bisher nicht möglich. Sie ist aber mit Sicherheit für die einzelnen Arten unterschiedlich, und in einigen Fällen scheint eine dem klassischen Muster entsprechende Atmungskette grössere Bedeutung zu besitzen als dies in Ascaris der Fall ist.

Die meisten Helminthen sind offenbar auf die Aktivität ihrer sauerstoffabhängigen Oxidationswege nicht angewiesen. Für einige wenige Arten dürften sie jedoch lebensnotwendig sein. Ein Beispiel hierfür liefert Litomosoides carinii, in dem eine mit der Acetat-Bildung gekoppelte, sauerstoffabhängige terminale Oxidase wirksam ist (100).

4.3. Die biologische Bedeutung des sauerstoffabhängigen Elektronentransportes (oxidative Phosphorylierung)

Mit dem Fumarat-Reduktase-System verfügt eine grosse Anzahl parasitischer Helminthen über die Möglichkeit, eine anaerobe Elektronentransport-Phosphorylierung zu betreiben. Da alle bisher untersuchten Helminthen-Mitochondrien aber auch Sauerstoff als terminalen Elektronen-Akzeptor verwenden können, müsste die Synthese von chemischer Energie auch über einen sauerstoffabhängigen Elektronentransport möglich sein. Der theoretische Hinweis dafür ergibt sich daraus, dass der Elektronenfluss zum Sauerstoff auch in Helminthen-Mitochondrien zunächst das NADH-Dehydrogenase-Segment passiert (Abb.12), womit in Analogie zur Situation in Wirbeltier-Mitochondrien eine ATP-Konservierung über den Kopplungsbezirk I erreicht werden sollte.

Eine direkte Messung der ATP-Synthese in Helminthen-Mitochondrien wurde bisher nur mit Mitochondrien-Präparationen von Fasciola hepatica (112,168,169), Hymenolepis diminuta (170) und Ascaris-Muskulatur durchgeführt (131,138,141,144-147). Diese Untersuchungen haben ergeben, dass Malat und Fumarat die weitaus bevorzugten Substrate für eine Elektronentransport-abhängige Synthese von ATP darstellen (138, 168) (Tab.V). Succinat, das in Wirbeltier-Mitochondrien ebenso rasch oxidiert werden kann wie Malat, wird im Helminthen-System bedeutend langsamer metabolisiert und führt nur zu einer vergleichsweise mässigen ATP-Bildung (Tab.V). Andere Tricarboxylat-Zyklus-Intermediate und Pyruvat können von isolierten Ascaris- und Fasciola hepatica-Mitochondrien noch schlechter als Succinat oder überhaupt nicht verwertet werden und ergeben somit noch geringfügigere oder keine messbaren oxidativen Phosphorylierungsraten (138,146,171). Der Grund für dieses Stoffwechselverhalten liegt darin, dass in den Helminthen die Substrat-Oxidation nur in geringem Umfang oder überhaupt nicht

Tab. V

Atmung und ATP-Synthese in intakten Mitochondrien aus Ascaris- und Rattenherz-Muskulatur (nach Köhler und Bachmann, 131).

Substrat	ATP-Bildung ^a		Sauerstoff-Verbrauch ^b	
	Ascaris	Rattenherz	Ascaris	Rattenherz
Malat	93.8 (81.6)	5032 ^c	39.0	1647 ^c
Succinat	16.0 (3.5)	3257	59.7	1866

^a nMol/5 min pro mg Protein. ^b nAtome/5min pro mg Protein. ^c In den Versuchsansätzen war Pyruvat zugegen. Die in Klammern angegebenen Werte zeigen den durch Oligomycin hemmbaren Anteil der ATP-Bildung an.

über den Tricarboxylat-Zyklus, der in freilebenden Tieren der zentrale Oxidations-Prozess für eine Vielzahl von Intermediärprodukten ist, betrieben werden kann. Im Helminthen-Mitochondrion geht die Verwertung kohlenhydratartiger Vorstufen im wesentlichen von den Zwischenstufen Malat bzw. Fumarat aus (vgl. Abschnitt 4.2), die durch Dismutation in Pyruvat bzw. Acetat und Succinat umgewandelt werden. In diesem Reaktionssystem werden die Reduktionsäquivalente über die Malatenzym- und Pyruvat-Dehydrogenase-Reaktion freigesetzt (vgl. Abschnitt 4.4). Diese werden in Abwesenheit von Sauerstoff der NADH-Fumarat-Reduktase-Reaktion zugeführt (Abb.16) und ergeben, wie die Daten aus dem anaeroben Versuchsansatz der Tab.VI zeigen, durch Kopplung mit dem Phosphorylierungsbezirk I pro Mol oxidiertem NADH ($2 e^-$) annähernd 1 Mol ATP.

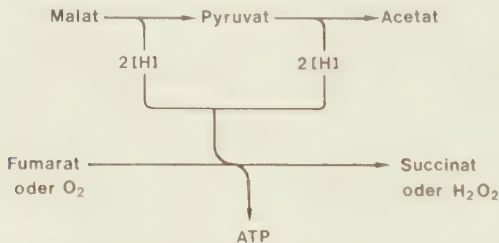


Abb.16. Anaerobe und aerobe Energiekopplung des Pyruvat- und Acetat-bildenden Reaktionssystems in parasitischen Helminthen.

Tab. VI

Stoffwechselbilanz und Energiebildung in den Muskelmitochondrien von *Ascaris suum* (nach Köhler und Bachmann, 1961)

Reaktionsbedingung	Substrat-Verbrauch ^a	Sauerstoff-Verbrauch ^b	Organische Endprodukte	ATP Synthese	Substrat Produkte	ATP 2e ⁻	ATP EA(N ₂)	ATP EA(O ₂)
Anaerob	40.8	-	38.1	17.7	1.07	0.86	0.87	-
Aerob	29.5	6.0	28.8	14.0	1.03	0.80	1.06	0.86
Aerob + KCN	34.5	6.8	33.5	15.2	1.03	0.70	1.01	0.82

Als Substrat wurde Malat verwendet. ^a nMol/min.mg Protein. ^b nAtome/min.mg Protein. 2e⁻ repräsentieren die im Stoffwechsel gebildeten Reduktionsäquivalente (errechnet aus den Bildungsdaten für Pyruvat und Acetat). EA(N₂) und EA(O₂) repräsentieren die im Stoffwechsel verbrauchten Elektronenakzeptormengen unter anaeroben (der gebildeten Menge Succinat äquivalent) bzw. aeroben (der gebildeten Menge Succinat + verbrauchten Menge Sauerstoff äquivalent) Reaktionsbedingungen.

Auch in Gegenwart von Sauerstoff endet die intramitochondriale Malat-Oxidation mit der Bildung von organischen Produkten, vor allem Succinat (Tab.VI). Unter diesen Bedingungen übersteigt aber die Bildungsrate von ATP diejenige von Succinat, d.h. die Oxidation von einem Reduktionsäquivalent liefert mehr als ein Molekül ATP. Daraus kann die Beteiligung einer sauerstoffabhängigen Phosphorylierung am Gesamtprozess abgeleitet werden. Da diese durch Cyanid nicht wesentlich zu beeinflussen ist (Tab.VI), dürfte sie vorwiegend auf der Kopplung mit dem alternativen Oxidaseweg beruhen.

Unsere Untersuchungen können jedoch einen Elektronenfluss über die Reaktionen der konventionellen respiratorischen Sequenz nicht völlig ausschliessen. Sein Anteil an der Gesamtphosphorylierung ist jedoch sehr klein. Dafür spricht auch die Tatsache, dass die Succinat-abhängige oxidative Phosphorylierung, die ausschliesslich über die "sites" II und III führt, im Helminthensystem sehr gering ist (Tab.V). Sie ist sogar noch geringer als der Vergleich des Aktivitätsverhältnisses von Malat- und Succinat-abhängiger Phosphorylierung zum Ausdruck bringt, denn Oligomycin und Cyanid bewirken nur eine schwache Hemmung der durch Succinat hervorgerufenen ATP-Bildung (131) (Tab.V).

Der Grund für die auch in Gegenwart von Sauerstoff bevorzugt ablaufende NADH-Oxidation über das Fumarat-Reduktase-System ist bisher nicht bekannt. Die Aktivitätsgehalte für NADH-Oxidase und NADH-Fumarat-Reduktase (Tab.III) können jedenfalls keine Erklärung dafür geben, da sie in einem vergleichbaren Bereich liegen. Die Präferenz gegenüber der anaeroben Atmung muss deshalb in anderen enzymatischen Wegen und deren Reaktionsverhalten zu suchen sein. Die spezifische Stoffwechselsituation im Parasiten sollte z.B. zu relativ hohen stationären Fumarat-Konzentrationen im mitochondrialen Reaktionsraum führen, was in diesem Zusammenhang von regulatorischer Bedeutung sein könnte. Ein Hinweis darauf ergab die Beobachtung von Köhler und Bachmann (131), dass die Geschwindigkeit der NADH-abhängigen Oxidation submitochondrialer Partikel aus *Ascaris* durch Fumarat unterdrückt werden kann. Dies bestätigt die Ansicht, dass die Wege der Fumarat- und Sauerstoff-Reduktion eine gemeinsame Wurzel im ETS des Parasiten besitzen. Das konkurrenzierende Verhalten beider Wege wird vermutlich durch

eine beiden Reaktionen gemeinsame geschwindigkeitsbestimmende Komponente des ETS bestimmt.

Die Mitochondrien von Fasciola hepatica zeigen in ihren Stoffwechseleigenschaften grosse Aehnlichkeit zu denen des Ascaris-Systems. Auch hier ist die Dismutation des Malats das zentrale mitochondriale Stoffwechselereignis, in das die Kohlenhydrat-Verwertung einmünden muss und die anaerob wie aerob letztlich zur Bildung von flüchtigen Fettsäuren führt. Ein Vergleich der Kohlenstoffbilanzen der Malat-Oxidation mit den dazugehörigen Phosphorylierungsraten sowie Hemmversuche der Succinat-Oxidation mit Antimycin weisen aber auch hier eindeutig auf die Fähigkeit zur oxidativen Phosphorylierung unter Verwendung von Sauerstoff als Akzeptor hin (168). Die aerobe Elektronentransport-Phosphorylierung führt hier gegenüber den anaeroben Mechanismen zu einer deutlichen Steigerung des thermodynamischen Wirkungsgrades ($P/2 e^- > 1.0$), welches auf die Beteiligung von mehr als einem Phosphorylierungsbezirk hinweist.

Unsere bisherigen Kenntnisse über die Mechanismen der oxidativen Phosphorylierung in Helminthen-Mitochondrien sind noch ausserordentlich gering. Sicher ist aber, dass parasitische Helminthen zu einer sauerstoffabhängigen Phosphorylierung befähigt sind. Hierfür dürften vor allem die zur konventionellen Atmungskette alternativen Oxidasewege als energieliefernde Schritte eingesetzt werden (Abb. 12 und 16), die aufgrund ihrer Lage im ETS mit einem der "site" I entsprechenden Phosphorylierungsbezirk in ein enzymatisches Gleichgewicht treten können. Eine Erhöhung der ATP-Ausbeute und des thermodynamischen Wirkungsgrades ist damit aber nicht gegenüber den anaeroben Mechanismen zu erreichen. Bei Fasciola hepatica scheint durch die Funktionstüchtigkeit weiterer Phosphorylierungsbezirke immerhin eine geringfügige Wirkungssteigerung in Anwesenheit von Sauerstoff möglich zu sein. Aehnliche Schlussfolgerungen können aus Untersuchungen über die oxidative Phosphorylierung von Moniezia expansa gezogen werden. Obwohl dieser Cestode den Kohlenstoff seiner Nährstoffe auch aerob hauptsächlich in Form von Lactat und Succinat eliminiert, zeigen seine Mitochondrien die Fähigkeit zur respiratorischen Kontrolle, und für die ADP/O-Quotienten mit L-Glycerol-3-

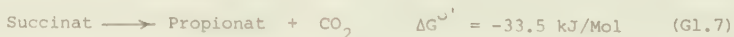
phosphat und Succinat wurden Werte erhalten, die denen der Mitochondrien von Wirbeltieren ähnlich sind (172).

Verallgemeinerungen sind bei der Frage der ETS-abhängigen Phosphorylierung in Helminthen sicher nicht möglich. Für manche Arten mag eine oxidative Phosphorylierung unter Beteiligung aller drei Phosphorylierungsbezirke eine wichtige biologische Bedeutung besitzen, in vielen anderen Helminthen scheint sie dagegen ein nicht lebensnotwendiger und nur geringfügig funktionstüchtiger Stoffwechselmechanismus zu sein. In diesem Zusammenhang wären Experimente an solchen Helminthen von besonderem Interesse, bei denen Sauerstoff für den energieliefernden Stoffwechsel eine grössere Rolle spielt als dies für Ascaris und Fasciola hepatica der Fall ist.

4.4. Fettsäure- und Alkohol-Fermentationen

Es wurde bereits darauf hingewiesen, dass für die Vielzahl der verschiedenen Fermentationsendprodukte (Tab. I) eine verhältnismässig kleine Anzahl Reaktionen zusätzlich zu den zentralen Abbauwegen erforderlich ist. Dabei scheinen alle gemischten Kohlenhydrat-Fermentierungen über die Schlüsselintermediäre PEP, Pyruvat und Succinat zu laufen.

Ausgangssubstanz für die Propionsäurebildung ist sicher in den meisten Fällen Succinat. Saz und Vidrine (163) beobachteten, dass in Gegenwart von Muskelstreifen aus Ascaris Succinat in Propionat überführt wird und der dafür verantwortliche Reaktionsmechanismus nicht in einer Reduktion von Lactat bestehen kann. Eine Analogie zur Propionsäurebildung der Propionibakterien ist ebenfalls auszuschliessen (173). Wie Versuche mit verschiedenen, spezifisch markierten Substraten ergeben haben, wird die Propionsäure in Ascaris und vielen anderen Helminthen in einem direkten Decarboxylierungsweg aus Succinat gebildet (Gl.7).



Neueste Untersuchungen über diesen Stoffwechselweg in Fasciola hepatica haben gezeigt, dass die Succinatbildung in dieser Helminthenart im wesentlichen in Umkehr zur Propionatverwertung der höheren Tiere verläuft (112, 168) (Abb.17) und somit nicht mit dem im

Prinzip sehr ähnlichen Succinat-Decarboxylase-System mancher Mikroorganismen identisch ist (175). Beide Reaktionswege führen über die CoA-Verbindungen des Succinats, Methylmalonats und Propionats. Der

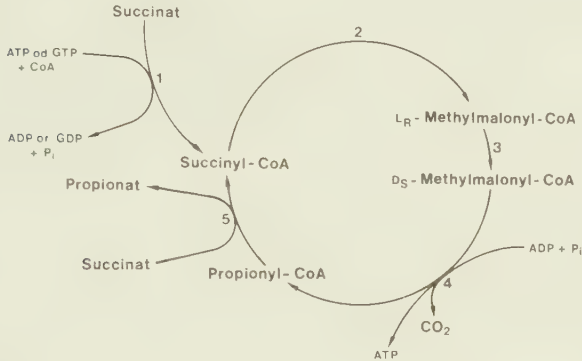


Abb.17. Das Succinat-Decarboxylase-System in Fasciola hepatica (nach Köhler, Bryant und Behm, 1977). 1 = Succinyl-CoA-Synthetase; 2 = Methylmalonyl-CoA-Mutase; 3 = Methylmalonyl-CoA-Racemase; 4 = Propionyl-CoA-Carboxylase; 5 = Acyl-CoA-Transferase.

CO_2 -eliminierende Schritt ist bei Fasciola hepatica aber als Umkehr der Propionyl-CoA-Carboxylase-Reaktion (EC 6.4.1.3) zu verstehen und nicht auf die Aktivität einer bei Bakterien (z.B. Micrococcus lactilyticus) vorkommenden, besonderen Methylmalonyl-CoA-Decarboxylase zurückzuführen.

Alle an der Succinat-Decarboxylierung beteiligten Enzymaktivitäten wurden inzwischen im grossen Leberegel nachgewiesen und bestimmt (176). Das Enzymsystem ist löslich und besitzt mitochondriale Lokalisation (112, 164, 176, 177). Interessant ist auch die Beobachtung über die relativ hohen Gehalte an Biotin und Cobalamin im selben Parasiten (105), ein Hinweis auf die herausragende Bedeutung der Propionsäurebildung, da beide Vitamine als Coenzyme an der Reaktion mitwirken.

Tab. VII

Succinat-Decarboxylase-Aktivität in Dicrocoelium dendriticum
(nach Köhler, unveröff.).

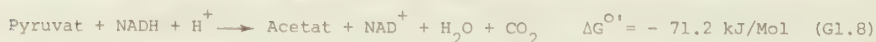
Inkubationszeit	CO ₂	Propionsäure
min	nMol pro g FG	nMol pro g FG
5	51.3	61.9
10	97.3	107.5

Die Versuche wurden unter Anaerobiose mit [1,4-¹⁴C]Succinyl-Coenzym A als Substrat durchgeführt. Die Reaktionsprodukte ¹⁴CO₂ und [1-¹⁴C]Propionat wurden aus dem Inkubationsgemisch abgetrennt und ihre Bildungsraten mit Hilfe der Szintillations-Spektrometrie bestimmt. FG = Frischgewicht.

Unter vergleichbaren experimentellen Bedingungen lieferte ein Rattenleber-Homogenat nur 4.6 nMole CO₂/10 min pro g FG.

Auch in Dicrocoelium dendriticum folgt die Bildung des Propionats dem aufgezeigten Weg. In eigenen Versuchen (178) mit zellfreien Systemen wurde festgestellt, dass dieser Parasit die Fähigkeit besitzt, [1,4-¹⁴C]Succinyl-CoA in CO₂ und Propionat umzusetzen (Tab.VII). Dabei zeigten beide Endprodukte einen sehr ähnlichen Radioaktivitätsgehalt. Ihre Bildung ist deshalb - wie in dem für Fasciola hepatica dargelegten Schema (Abb. 17) - über den direkten Decarboxylierungsweg zu erwarten.

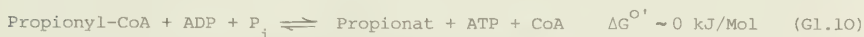
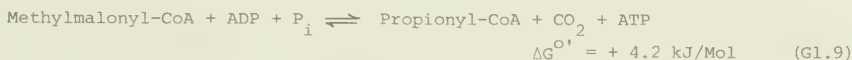
Die Bildung des Acetats scheint vorwiegend durch oxidative Decarboxylierung von Pyruvat mit Acetyl-CoA als Zwischenstufe zu erfolgen (Gl.8). Für Ascaris und Fasciola hepatica konnte die Acetat-Bildung



als eine spezifische Leistung der Mitochondrien sichergestellt werden (94, 131, 168). Einzelheiten über den genauen Reaktionsverlauf sind jedoch noch unbekannt, doch es ist anzunehmen, dass der Schritt der oxidativen Decarboxylierung durch Pyruvat-Dehydrogenase in einer

NADH-abhängigen Reaktion katalysiert wird (176, 179).

Untersuchungen zur Frage nach der Energiegewinnung und dem Schicksal der Acyl-CoA-Verbindungen in Fettsäure-fermentierenden Helminthen werden zur Zeit in verschiedenen Laboratorien durchgeführt. Für den Weg der Propionatbildung wird schon seit langem postuliert, dass zumindest der für die Aktivierung des Succinats notwendige Energiebetrag in der Reaktionsfolge bis zum freien Propionat zurückgewonnen werden kann. Thermodynamisch erscheint dies möglich, und auch mechanistisch sind für zwei Reaktionsschritte Substratstufen-Phosphorylierungen formulierbar (Gl.9 und 10). Die Voraussetzungen dafür



wären eine reversible Führung der ATP-abhängigen Propionyl-CoA-Carboxylase-Reaktion (Gl.9) und die Erhaltung der freien Hydrolyse-Energie des Propionyl-CoA-Thioesters.

Köhler und Bryant (177) haben inzwischen genauere Untersuchungen über das Succinat-Decarboxylase-System von Fasciola hepatica durchgeführt. Hierfür wurde ein Mitochondrienextrakt verwendet, der frei war von partikulären Elementen und niedermolekularen Substanzen. Dieses Enzymsystem war dazu befähigt, eine Nettosynthese von einem Mol ATP pro Mol decarboxyliertem Succinat zu katalysieren (Tab. VIII). Die Tatsache, dass von diesem enzymatischen Prozess nur kata-

Tab. VIII

Succinat-Decarboxylierung und ATP-Bildung in Fasciola hepatica
(nach Köhler, Bryant und Behm ,177).

Inkubationszeit (min)	Endprodukte der Succinat-Decarboxylierung *		ATP-Bildung *
	CO ₂	Propionsäure	
20	321	287	325
30	544	540	475

*Bildungsraten in nMol pro g Frischgewicht angegeben.

lytische Mengen Coenzym A benötigt werden, lässt vermuten, dass die freie Energie der Propionyl-CoA-Spaltung durch Energiekopplung über ein Acyl-CoA-Transferase-System für die Zelle erhalten bleibt, d.h. für die Succinyl-CoA-Synthese ausgenutzt werden kann (Gl.11; Abb.17).



Aufgrund dieser und weiterer Untersuchungen erscheint eine in Analogie zur Acetatbildung in Entamoeba histolytica (Gl.5) geführte Propionyl-CoA-abhängige Synthese von ATP in Fasciola hepatica wenig wahrscheinlich. Die Synthese von "energiereichem" Phosphat dürfte vielmehr allein über die Decarboxylierungsreaktion erfolgen, bei der Methylmalonyl-CoA in Propionyl-CoA übergeführt wird (177) (Gl.9). Eine Zusammenfassung der derzeitigen Vorstellungen über den Mechanismus der Propionsäurebildung in Fasciola hepatica ist in Abb. 17 gegeben.

Die Möglichkeiten zur Konservierung der freien Hydrolyse-Energie, die bei der Spaltung der Acetyl-CoA-Thioesterbindung auftritt, sind in Analogie zu den Verhältnissen des Propionatstoffwechsels zu sehen. Nach neusten Untersuchungen soll in Fasciola hepatica die Acetyl-CoA-Hydrolyse ebenfalls mit einer CoA-Transferase- (Abb. 6) aber auch mit einer ADP- bzw. GDP-abhängigen Thiokinase-Reaktion (Gl.5) in ein enzymatisches Gleichgewicht treten können (176). Eine Phosphotransacetylierung mit gekoppelter Substratstufen-Phosphorylierung über das Acylat-Kinase-System (Abb. 18) scheint dagegen für die Acetatbildung in parasitischen Helminthen nicht möglich (168, 176). Der durch Acylat-Kinasen katalysierte Prozess ist

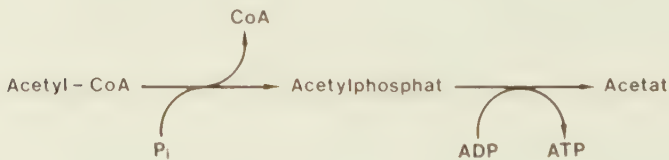


Abb.18. Acetatbildung durch Phosphotransacetylierung mit gekoppelter Substratstufen-Phosphorylierung über das Acylat-Kinase-System.

eine wichtige Reaktion der Energiegewinnung in obligat und vielen fakultativ anaeroben Bakterien, sie dürfte aber in eukaryotischen Organismen generell nicht vorkommen. Aktivitätstest auf Acetat-Kinase in zellfreien Ueberständen aus Ascaris-Muskulatur verliefen negativ (180), und in Versuchen mit Mitochondrienfraktionen von Fasciola hepatica konnte keine Stimulierung der Pyruvat-abhängigen ATP-Synthese durch Phosphotransacetylase erreicht werden (168).

Die vorliegenden experimentellen Ergebnisse liefern bisher noch zu wenige konkrete Anhaltspunkte dafür, dass parasitische Helminthen mit Acyl-Thioestern eine Synthese von ATP betreiben können. Die quantitativen Daten über den Malatabbau und die Phosphorylierungsfähigkeit von Ascaris- und Fasciola hepatica-Mitochondrien (131, 138, 168) lassen sogar Zweifel darüber aufkommen, dass Thioesterbindungen für diesen Zweck genutzt werden können. Die Malat-abhängigen Phosphorylierungsraten müssten erheblich höher ausfallen als die bisher erhaltenen, und Hemmstoffe der oxidativen Phosphorylierung dürften die dabei wirksamen Mechanismen nicht vollständig zum Erliegen bringen, da Acyl-CoA-abhängige Phosphorylierungen immer auf der Substratstufe erfolgen.

Als "energiereiche" Verbindungen im biochemischen Sinne müssen aber auch solche gewertet werden, bei denen nicht die Hydrolyse-Energie, sondern das elektrochemische Potential (gegenüber einem entsprechenden Elektronenakzeptor) die Bildung von chemischer Energie in Form von ATP veranlasst. Dazu gehören u.a. reduzierte Coenzyme. Unter der Voraussetzung, dass das bei der Pyruvat-Oxidation reduzierte Coenzym (wahrscheinlich NADH) mit einem ATP-liefernden System im Gleichgewicht steht, würde die Acetat-Bildung des Parasiten auch ohne eine Acetyl-CoA-abhängige Substratstufen-Phosphorylierung einen energetischen Vorteil für die Zelle bieten.

In der Tat liefert die anaerobe Malat-Dismutation in den Mitochondrien von Ascaris (131, Tab. VI) und Fasciola hepatica (168), die in ihrem oxidierenden Reaktionsverlauf hauptsächlich zur Bildung von Acetat führt, pro Mol gebildetem Reduktionsäquivalent ein Mol ATP. Damit kann eine stöchiometrische Energiekopplung der Pyruvat-Dehydrogenase-Reaktion für Ascaris und den grossen Leberegel angenommen werden (Abb. 16). Wie bereits ausführlich in den vorangegangenen Abschnitten diskutiert, fungiert dabei als energielieferndes

System vorwiegend die NADH-Fumarat-Reduktase-abhängige Elektronen-transport-Phosphorylierung. In Gegenwart von Sauerstoff ist aber auch eine Kopplung von NADH-Oxidase mit dem Phosphorylierungs-system möglich.

In anderen Acetat-bildenden parasitischen Helminthen, wozu u.a. Haemonchus contortus, Hymenolepis diminuta und Dicrocoelium den-driticum gehören, dürften vergleichbare Mechanismen wirksam sein. Da diese offensichtlich spezifisch und von grosser Bedeutung für den energieliefernden Stoffwechsel dieser Organismen sind, wären ein-gehendere Untersuchungen dazu dringend wünschenswert.

Ascaris eliminiert die Endprodukte des Kohlenhydrat-Stoffwechsels nur zum Teil als Acetat, Propionat und Succinat. Der weitaus grö-sere Anteil dieser Verbindungen dient dem Aufbau von höheren, flüch-tigen Fettsäuren, von denen 2-Methylbutyrat und 2-Methylvalerat die quantitativ bedeutendsten sind (181, 182). Die Bildung dieser Säuren scheint von den CoA-Verbindungen des Acetats bzw. Propionats auszu-gehen und über Thioester-Zwischenstufen zu verlaufen (121, 122, 183, 184) (Abb. 19). Der Initialschritt besteht in einer Kondensations-reaktion, wobei bevorzugt das C-Atom 2 des Propionyl-CoA mit der Thioesterfunktion des Acetyl-CoA bzw. eines zweiten Propionyl-CoA

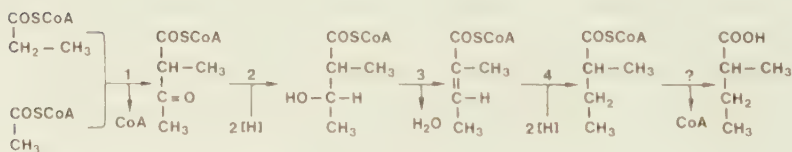


Abb.19. Der Syntheseweg höherer flüchtiger Fettsäuren in Ascaris suum (modifiziert nach Saz und Weil, 121). Das Beispiel zeigt den Bildungsweg für 2-Methylbuttersäure. 1 = Acyl-CoA-Transferase; 2 = 3-Ketoacyl-CoA-Reduktase; 3 = Enoyl-CoA-Hydratase; 4 = 2,3-Dehydroacyl-CoA-Reduktase.

in Verbindung tritt. Die dabei entstehenden methylverzweigten Keto-Acyl-Intermediate werden in einer NADH-abhängigen Reaktion in ihre entsprechenden Hydroxy-Acyl-Verbindungen übergeführt. Die gesättigten Fettsäuren leiten sich von diesen durch Wasserabspaltung und nochmalige Wasserstoffanlagerung ab. Der aufgezeigte Syntheseweg ist somit in seinem Prinzip der Umkehr der β -Oxidation der Fettsäuren sehr ähnlich. Neuere Untersuchungen von Suarez et al. (184) haben jedoch gezeigt, dass die Eigenschaften der einzelnen Enzymaktivitäten von denjenigen des Fettsäureabbauweges der höheren Tiere erheblich abweichen. Die für die Kondensation der Acyl-CoA-Einheiten verantwortliche Enzymaktivität (Acyl-CoA-Acyl-Transferase oder Acyl-CoA "condensing enzyme", EC 2.3.1.9) und die Enzyme 3-Keto-2-methylacyl-CoA-Reduktase (EC 1.1.1.30) und Enoyl-CoA-Hydratase (EC 4.2.1.17) wurden bereits partiell gereinigt und eingehender untersucht (184). Trotz grosser Bemühungen gelang es bisher aber nicht, den letzten enzymkatalysierten Schritt, der zur gesättigten Fettsäure-CoA-Verbindung führt (vgl. Abb. 19), darzustellen. Dieses Enzym dürfte somit von den vergleichbaren Acyl-CoA-Dehydrogenasen höherer Tiere verschieden sein. Auch war es bisher nicht möglich, die Synthese der C_5 - und C_6 -Säuren aus Malat oder anderen Vorläufern in einem zellfreien System aus Ascaris-Muskulatur nachzuvollziehen. Die Synthesemechanismen für höhere flüchtige Fettsäuren werden mit der Zerstörung der Zellintegrität des Muskelgewebes offenbar irreversibel geschädigt. Die Gründe dafür könnten entweder in der Instabilität der vermutlich Flavoprotein-haltigen terminalen Reduktase oder deren Inhibierung durch Sauerstoff liegen. Auch ist daran zu denken, dass die für die Regeneration des reduzierten Flavins notwendigen enzymatischen Mechanismen bei der Präparation der zellfreien Systeme geschädigt oder gehemmt werden.

Als möglicher Teilschritt für eine Phosphorylierung kann die reduktive Bildung der Acyl-CoA-Thioester angesehen werden (Reaktionsschritt 4 der Abb. 19). Die Uebertragung der Elektronen könnte dabei über ein Pyridinnucleotid auf ein Flavoprotein erfolgen, an dem die 2,3-ungesättigten Acyl-CoA-Derivate als terminale Elektronen-Akzeptoren wirken (Abb. 20). Thermodynamisch ist eine Elektronentransport-Phosphorylierung in einer solchen Sequenz denkbar. Das Redoxpotential des NAD^+ /NADH-Systems ist gegenüber dem des Akzeptor-Systems

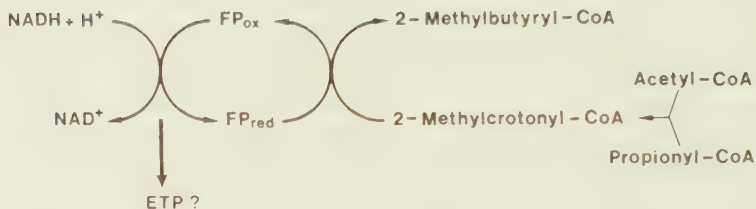


Abb.20. Möglicher Mechanismus der terminalen Reduktionsreaktion bei der Synthese höherer flüchtiger Fettsäuren in *Ascaris suum*. FP = Flavoprotein-Dehydrogenase; ETP = Elektronentransport-Phosphorylierung.

(z.B. Methylcrotonyl-CoA/ Methylbutyryl-CoA) so viel negativer, dass aufgrund der Potentialdifferenz ($E^{\text{O}'} \sim 300 \text{ mV}$) die Synthese von einem Mol ATP energetisch möglich wird. Ein vergleichbarer Mechanismus ist im übrigen im Fumarat-Reduktase-System der Helminthen realisiert, in dem ebenfalls die Reduktion von Flavoprotein durch Pyridinnucleotid mit einer Elektronentransport-Phosphorylierung verbunden ist.

Das Schicksal der freien Energie, die bei der Hydrolyse der C_5 - und C_6 -Acyl-CoA-Thioester auftritt, ist unbekannt. Es könnten hier ähnliche Überlegungen angestellt werden, wie dies bei der Abhandlung der Acetat- und Propionatbildung bereits geschehen ist. Sicher ist, dass das CoA und seine Acyl-Thioester ganz allgemein von grosser Bedeutung für den fermentativen Stoffwechsel parasitischer Helminthen sind. Die weitaus meisten der verschiedenen metabolischen Wege führen immer wieder zu den gleichen Zwischenprodukten, den Acyl-CoA-Thioestern. Es ist deshalb anzunehmen, dass wirksame Mechanismen für die Kontrolle des CoA-Stoffwechsels vorhanden sind und für die Aufrechterhaltung der CoA-Reserven sorgen. Diese könnten in einem engen Zusammenspiel zwischen CoA-verbrauchenden und CoA-liefernden Reaktionen bestehen, wozu als Beispiel die mögliche funktionelle Kopplung zwischen Pyruvat-Dehydrogenase- und Acetyl-CoA-Thiokinase-Re-

aktion bei der Bildung des Acetats dienen kann (Abb. 21). Eine andere, sehr wirksame enzymatische Organisation liegt in der Kopplung von CoA-abhängigen Stoffwechselwegen mit CoA-Transferasen.

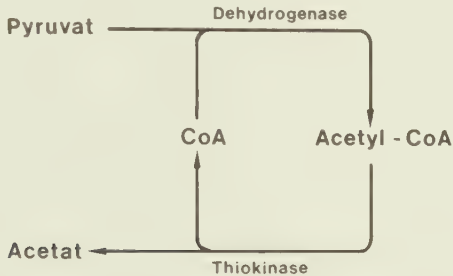


Abb.21. Funktionelle Kopplung zwischen Pyruvat-Dehydrogenase und Acetyl-CoA-Thiokinase in parasitischen Helminthen.

Ein Beispiel hierfür liefert uns die Propionsäurebildung aus Succinat, bei der Coenzym A einen Zyklus durchläuft, indem es vom Produkt Propionyl-CoA auf das Substrat Succinat übertragen wird und somit selbst nicht frei auftritt (Abb. 17).

Höhere flüchtige Fettsäuren treten nicht nur bei Ascaris als metabolische Endprodukte auf. Auch Trichuris vulpis (107), Ancylostoma caninum (185), Fasciola hepatica (186) und Paragonimus westermani (187) enthalten diese Verbindungen in ihren Stoffwechselexkreten. Zum Teil scheinen diese aber anderen als den für Ascaris gültigen Bildungsmechanismen zu folgen. Für den grossen Leberegel (186) und Ancylostoma caninum (185) konnte gezeigt werden, dass sich die C₄- und C₅-haltigen methylverzweigten Säuren nicht von Kohlenhydratvorstufen, sondern von Aminosäuren ableiten. Valin, Leucin und Isoleucin werden in diesen Organismen zu Isobutyrat, Isovalerat bzw. 2-Methylvalerat abgebaut. Der Reaktionsmechanismus scheint über eine Transaminierung und oxidative Decarboxylierung zu führen und würde somit den einleitenden Reaktionsschritten für den Abbau der methylverzweigten Aminosäuren in höheren Tieren entsprechen. Da hierbei Coenzym-gebundene Reduktionsäquivalente freiwerden, bietet die Ver-

wertung der erwähnten Aminosäuren eine zusätzliche Möglichkeit, auf den Redoxstatus der Zelle regulierend einzuwirken.

Die möglichen Bildungsmechanismen der seltener vorkommenden Endprodukte Formiat und Acetoin (Acetyl-Methylcarbinol) sollen hier nicht diskutiert werden, da noch zu wenige experimentelle Informationen vorliegen und diese Substanzen auch nur in Spuren gebildet und ausgeschieden werden und somit wahrscheinlich nicht von grösserer biologischer Bedeutung sind (188).

Bemerkenswert erscheint dagegen noch die Bildung von Alkoholen als metabolische Endprodukte bei parasitischen Helminthen. Die Besonderheit der Aethanolbildung einiger Acanthocephalen besteht dabei darin, dass sie durch eine NADP^+ -abhängige Dehydrogenase katalysiert wird (189). Die Coenzympezifität dieses Enzyms ist somit von derjenigen der Alkohol-Dehydrogenase der Wirbeltierleber und der Hefe verschieden. Ähnlichkeiten ergeben sich aber in dieser Beziehung zum Stoffwechsel parasitischer Protozoen (z.B. Entamoeba histolytica, 190) und verschiedener Prokaryoten (z.B. Leuconostoc- und Acetobacter-Arten), deren Alkohol-Dehydrogenasen ebenfalls NADP -Abhängigkeit zeigen.

Die Bildung von Propanol ist bisher nur bei einer Helminthenart beobachtet worden (108). Der Reaktionsverlauf dieser Fermentierung ist bisher unbekannt. Zwischenprodukt dürfte jedoch Propionsäure sein, die in zwei aufeinanderfolgenden Reduktionsschritten in Propanol überführt werden kann.

Die biologische Bedeutung der vielfältigen fermentativen Mechanismen bei parasitischen Helminthen kann bisher noch nicht befriedigend geklärt werden. Es mag sich hier um die unterschiedlichen Versuche der einzelnen Arten handeln, ihren energieliefernden Stoffwechsel unter den gegebenen spezifischen Umweltbedingungen so ökonomisch und so adaptiv wie möglich zu organisieren.

Die bisherigen Ausführungen haben deutlich gemacht, dass diejenigen parasitischen Helminthen, die zur CO_2 -Fixierung und zum Abbau des Kohlenhydrats zu Succinat und flüchtigen Fettsäuren befähigt sind, energetisch gegenüber solchen Formen im Vorteil sind, die ihre anaerobe Energieproduktion vorwiegend oder ausschliesslich über glykolytische Mechanismen mit Lactat- oder Aethanol-Bildung bewerkstelligen. Die Erfahrung hat gezeigt, dass offenbar ein Zusammen-

hang zwischen der Effizienz des Energiestoffwechseltyps und bestimmten Parametern der parasitischen Lebensräume besteht. Helminthen, denen ein an organischen Nährstoffen reichhaltiges und mehr oder weniger quantitativ konstantes Nahrungsangebot zur Verfügung steht, betreiben ihre Energieproduktion vorwiegend über den wenig ökonomischen Weg der Lactat-Bildung. Dazu gehören verschiedene Dracunculiden und Filarienarten sowie die in Blutgefässen lebenden Schistosomen (14, 99-101, 191). Ganz andere Verhältnisse liegen bei Darmparasiten vor, deren Ernährung zu einem hohen Grad von den Nährstoffen abhängt, die der Wirt aufgenommen hat. Solche Parasiten sind sicher leichter und gravierender, z.B. durch die Art der Nahrung oder durch Hunger und Darmkrankheiten des Wirtes, in ihrem Stoffwechselgeschehen zu beeinflussen, als Gewebeparasiten. Hierin könnte die Erklärung für die Beobachtung liegen, dass darmbewohnende Helminthen offenbar ohne Ausnahme ihren Energiestoffwechsel über gemischte Fermentierungen betreiben. Diese führen, wie wir wissen, zu einem im Vergleich zur Milchsäure-Bildung höheren ökonomischen Wirkungsgrad. Höhere Energieausbeute und grössere Stoffwechsel-Komplexität bedeuten aber auch ein höheres Mass an Flexibilität, sich Veränderungen der Umweltbedingungen anzupassen.

Gewisse Einschränkungen in der Stoffwechsel-Flexibilität ergeben sich durch die Tatsache, dass die Wasserstoffbilanz des anaerob ablaufenden Reaktions-Systems ständig intern ausgeglichen werden muss. Das heisst, die Geschwindigkeiten der einzelnen Reaktionsabläufe müssen immer in einem bestimmten Verhältnis zueinander stehen, damit der Gesamtstoffwechsel weder in einen reduzierten Zustand entgleisen noch oxidiertes Coenzym akkumulieren kann. Die Zusammensetzung der sich aus dem Kohlenhydrat-Stoffwechsel ableitenden metabolischen Endprodukte spiegelt nur in einigen Fällen den ausgeglichenen Redoxstatus des Gesamtstoffwechsels wider. Wird z.B., wie bei Ascaris, vorwiegend eine reduktive Synthese von höheren Fettsäuren betrieben, so müsste es zwangsläufig zu einem Zusammenbruch des Redoxgleichgewichts kommen, da dabei mehr oxidierte Coenzyme anfallen als verbraucht werden. Ähnliche Betrachtungen können für den Stoffwechsel des Cestoden Moniezia expansa angestellt werden, in dem Kohlenhydrate hauptsächlich zu Lactat und Succinat abgebaut werden (102). Andererseits würde das ungefähre 1:1:1 Verhältnis der Endprodukte Lactat, Acetat und Pro-

pionat von Dicrocoelium dendriticum (31) ein Abgleiten des Redoxstatus in einen reduzierten Zustand zur Folge haben. Verschiedene Autoren (12, 13) haben deshalb mit Recht die Mitwirkung von zusätzlichen, vom Kohlenhydrat-Stoffwechsel unabhängigen Mechanismen für die Aufrechterhaltung des Redoxgleichgewichts postuliert. Die mögliche Bedeutung, die dem Stoffwechsel von Aminosäuren in diesem Zusammenhang zukommt, wurde bereits angedeutet (Abschnitt 4.2) und soll an anderer Stelle ausführlich diskutiert werden.

Ein gemeinsames Kennzeichen der in den gemischten Fermentationen entstehenden flüchtigen Fettsäuren und Bernsteinsäure ist der relativ hohe pK-Wert (4.7. - 5.9.) ihrer Carboxylfunktionen. Dadurch kommt diesen Verbindungen eine wichtige Rolle bei der Regulation des pH-Wertes in den Parasitengeweben zu. Die im Dünndarm von Wirbeltieren vorherrschenden hohen Partialdrucke von CO_2 (pCO_2), die besonders nach den Mahlzeiten drastisch ansteigen, können eine erhebliche Acidifizierung auch der intrazellulären Kompartimente der Parasitengewebe verursachen. Diesem Anstieg der Protonenkonzentration durch vermehrte exogene CO_2 -Produktion können die schwachen Carbonsäuren durch Protonenaufnahme entgegenwirken und damit wesentlich zur Konstanthaltung des Gewebe-pH-Wertes beitragen (Gl. 12).



Nach Podesta et al. (97) kommt dem Bicarbonatgehalt und der Osmolarität der intrazellulären Flüssigkeit eine bedeutende Regulatorfunktion im Kohlenhydrat-verwertenden Stoffwechsel von Darmparasiten zu. Die Autoren fanden, dass die Erhöhung der HCO_3^- -Ionenkonzentration und Osmolarität zu einer grossen Aktivitätssteigerung der PEP-Carboxykinase und zu einer Erniedrigung ihres K_m -Wertes für PEP führen. Die Aktivität des Konkurrenz-Enzyms, Pyruvat-Kinase, wird dagegen unter diesen Bedingungen gehemmt und die K_m für PEP erhöht. Die Folge davon ist eine Begünstigung der CO_2 -Fixierung und damit die Bildung von Succinat und flüchtigen Fettsäuren.

Aufgrund dieser Situation wäre die Entwicklung CO_2 -abhängiger gemischter Fermentationen in intestinalen Helminthen weniger auf eine mögliche Sauerstoffarmut, sondern auf die im Lebensraum der Parasiten vorherrschenden hohen pCO_2 zurückzuführen (97). Eine solche metabolische Strategie bietet gegenüber einfachen glykolytischen Fermen-

tationen folgende Vorteile: Die erhöhte Stoffwechsel-Komplexität und Energieausbeute führen zu einem gesteigerten Mass an metabolischer Flexibilität, die vor allem für darmbewohnende und im Magen von Wiederkäuern lebende Parasiten aus bereits angeführten Gründen von Wichtigkeit ist. Zum anderen kann durch die Puffereigenschaften der sauren Endprodukte der CO_2 -bedingten pH-Erniedrigung im Parasitengewebe entgegengewirkt werden.

Eine weitere in diesem Zusammenhang vorteilhafte Eigenschaft niederer Fettsäuren ist ihr starkes Permeationsvermögen. Die ungeladenen Formen dieser Verbindungen zeigen beste Voraussetzungen für einen Membrantransport durch einfache Diffusion, womit ihre notwendige Eliminierung problemlos und rasch erreicht werden kann.

Die Entwicklung von Stoffwechselwegen, die zur Bildung von Succinat und flüchtigen Fettsäuren führen, stellt somit eine sinnvolle Anpassung des parasitischen Organismus an seine Umweltbedingungen dar.

4.5. Der Tricarbonsäure-Zyklus

Für diejenigen Parasitenarten, die auch unter aeroben Bedingungen ihre Kohlenhydrat-Verwertung praktisch vollständig über fermentative Mechanismen und die Succinat-Bildung abwickeln, kann der Tricarbonsäure-Zyklus (TSZ) natürlich kein bedeutendes Hilfsmittel für den oxidativen Substratabbau darstellen. Stoffwechselbilanzen zeigen, dass Fasciola hepatica (15, 105, 150), Schistosoma mansoni (14), Heterakis gallinarum (26) und Haemonchus contortus (108) zu solchen Arten gehören. Bei anderen Helminthen, wie z.B. Dicrocoelium dendriticum (20), Mesocostoides corti-Tetrathyridien (22) und Nippostrongylus brasiliensis (21), geht dagegen die Ausscheidungsrate bestimmter Endprodukte beim Uebergang von anaeroben zu aeroben Bedingungen mehr oder weniger stark zurück. Da dieser Effekt nicht durch einen Anstieg anderer Fermentationsprodukte oder eine entsprechende Reduktion der Substrataufnahme kompensiert wird, deutet er die Präsenz funktionstüchtiger, sauerstoffabhängiger Oxidationsprozesse, wozu auch der TSZ gehört, in diesen Parasiten an.

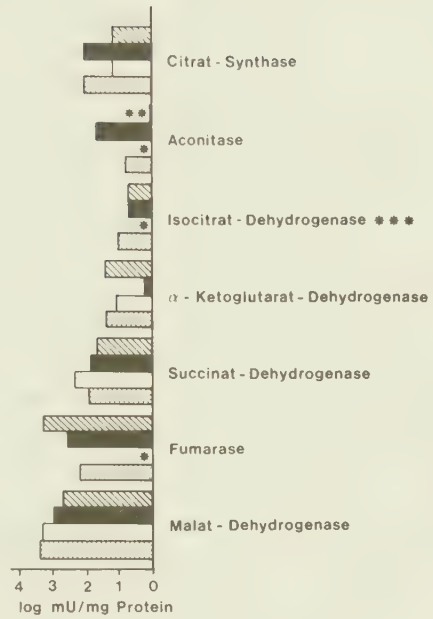
Die Prüfung dieser Frage kann mit Hilfe von Isotopenversuchen

vorgenommen werden. Nach den allgemeinen Gesetzen des Intermediärstoffwechsels aerober Organismen wird das C-Atom 6 der Glucose vorwiegend in den Decarboxylierungsschritten des TSZ eliminiert, d.h. für die Bildung von $^{14}\text{CO}_2$ aus $[6-^{14}\text{C}]$ Glucose würde die Funktionstüchtigkeit des TSZ eine notwendige Voraussetzung darstellen. Die wenigen parasitischen Helminthenarten, die bisher in dieser Richtung geprüft wurden, haben jedoch in keinem einzigen Falle die Fähigkeit zur CO_2 -Bildung aus dem Kohlenstoffatom 6 der Glucose in einem quantitativ relevanten Umfang erkennen lassen (20,22,100,101). Das metabolische CO_2 , das nach Abbau von Glucose durch parasitische Helminthen zur Ausscheidung gelangt, dürfte zum überwiegenden Teil aus den Reaktionen des Malatenzyms und der Pyruvat-Dehydrogenase sowie aus dem Succinat-Decarboxylase-Weg stammen. Vorläufer sind hierfür die C-Atome 3 und 4 der Glucose, was durch Untersuchungen von Wang und Saz (100) an Litomosoides carinii eine experimentelle Bestätigung erfuhr.

Ein über Acetat hinausgehender nennenswerter Abbau eines Substrats ist bei parasitischen Helminthen bisher noch nicht mit Sicherheit festgestellt worden. Dieser wird für die Energiegewinnung auch nur dann sinnvoll, wenn die Oxidation der im Zyklus entstehenden reduzierten Coenzyme mit einer wirksamen Elektronentransport-Phosphorylierung verbunden werden kann. Mit dem Fumarat-Akzeptor-System lässt sich dies jedoch nicht erreichen, und die sauerstoffabhängigen Mechanismen sind dafür sicher in den meisten Fällen auch zu wenig wirkungsvoll.

Unbestritten ist dagegen die Präsenz von Citrat-Zyklus-Enzymen (4,5), auch derjenigen, die nicht in Umkehr zu ihrem klassischen Reaktionsverhalten für die Succinat-Bildung sorgen. Der kleine Leberegel (20) und Ascaris-Muskulatur (7,179,183,192-194) enthalten das vollständige Aktivitätsspektrum der TSZ-Enzyme (Abb.22). Dass es trotzdem nicht zu nennenswerten Oxidationsraten von Kohlenstoff über den Zyklus kommt, hängt einmal mit den bereits angeführten Gründen zusammen. Zum anderen wird eine direkte Limitierung des Metabolitflusses durch sehr niedrige Aktivitätsgehalte bestimmter Enzyme

Abb.22. Aktivitätswerte der mitochondrialen Tricarbon-säure-Zyklus-Enzyme von Ascaris-Muskulatur (schraffiert), Dicrocoelium dendriticum (schwarz), Fasciola hepatica (weiss) und Rattenleber (punktiert). Die Aktivitätswerte wurden aus Arbeiten von Köhler und Gisler (192), Barrett (275), Köhler und Hanselmann (20) und Prichard und Schofield (130) zusammengestellt. * Aktivität ist nicht nachweisbar; ** Aktivität ist geringer als 1 nMol/min pro mg Protein; *** NAD⁺-abhängiges Enzym.



erreicht. Für Dicrocoelium ist dies vor allem NAD⁺-abhängige Isocitrat- und α-Ketoglutarat-Dehydrogenase und für Ascaris das Enzym Aconitase (Abb.22). In den Mitochondrien von Fasciola hepatica sind die Enzyme Aconitase, NAD⁺-abhängige Isocitrat-Dehydrogenase und Fumarase offenbar überhaupt nicht vorhanden (130).

Niedrige Aktivitätsgehalte oder das Fehlen einzelner Enzyme scheint eine weitverbreitete Eigenschaft des TSZ parasitischer Helminthen zu sein. Das Ziel dieser Strategie ist es, den Substratfluss durch den Zyklus zu drosseln oder zu unterbinden, die Funktionstüchtigkeit gewisser Einzelreaktionen oder kürzerer Reaktionsabschnitte aber aufrechtzuerhalten.

Auf verschiedene solcher TSZ-Teilreaktionen können parasitische Helminthen nicht verzichten. Für die Bildung des Succinats aus Oxalacetat werden z.B. die Enzyme Malat-Dehydrogenase, Fumarase und Succinat-Dehydrogenase benötigt. Auch wird durch bestimmte Reaktionen des TSZ eine Verbindung zum Aminosäurestoffwechsel hergestellt. Für den mitochondrialen Raum dürften dabei besondere Beziehungen zwischen NADP⁺-abhängiger Isocitrat-Dehydrogenase und Glutamat-Dehydrogenase abgeleitet werden. Durch Zusammenwirken dieser beiden Enzyme, die z.B. in Ascaris nachgewiesen wurden (193,195), wird die Bildung von L-Glutaminsäure ermöglicht. Andererseits kann L-Glutaminsäure durch Transaminierung und die Reaktionen der α -Ketoglutarat-Dehydrogenase und Succinat-Thiokinase auch für den energieliefernden Stoffwechsel herangezogen werden (vgl. dazu Abschnitt 4.6.). Die dabei freiwerdenden Reduktionsäquivalente können durch Kopplung mit dem Fumarat-Reduktase-System oxidiert werden. Dieser Stoffwechselweg, der über zwei verschiedene enzymatische Mechanismen zur Bildung von Succinat führt, setzt eine besonders enge Verknüpfung von Aminosäure- und Kohlenhydrat-Metabolismus voraus. Er scheint die wesentliche Grundlage des energieliefernden Stoffwechsels in Moniezia expansa zu sein (126).

Weitere Beziehungen der NADP⁺-spezifischen Isocitrat-Dehydrogenase könnten zu den NADP⁺-verbrauchenden Schritten der Sterinsynthese und zu Hydroxylierungsreaktionen bestehen. Zu einer Fettsäuresynthese sind parasitische Helminthen offenbar nicht befähigt (7,8,183,190, 197), eine Kettenverlängerung höherer Fettsäuren wurde jedoch beobachtet (198). Sollten dafür, wie in höheren Tieren, Reduktionsäquivalente in Form von NADPH benötigt werden, dann könnte die Zulieferung von NADPH für diesen Prozess auch bei Helminthen über die Isocitrat-Dehydrogenase-Reaktion erfolgen.

4.6. Die Bedeutung der Aminosäuren für den energieliefernden Stoffwechsel

In welchem Umfang der Abbau stickstoffhaltiger Verbindungen bei der Energiegewinnung in parasitischen Helminthen eine Rolle spielt, ist schwer abzuschätzen. Aminosäuren dürften aber auch in diesen Organismen über Transaminierungs- und Desaminierungsreaktionen Anschluss

an die allgemeinen Abbaumechanismen des Stoffwechsels finden. Auf die Möglichkeit zur Umformung von Valin, Leucin und Isoleucin in flüchtige Fettsäuren und die Bedeutung von Glutaminsäure für den energieliefernden Stoffwechsel mancher Helminthen wurde bereits an anderer Stelle eingegangen.

Hochachka und Mitarb. (12) nehmen an, dass der Stoffwechsel der Aminosäuren in fakultativ anaeroben Invertebraten mit demjenigen der Kohlenhydrate eng verknüpft ist. Experimentelle Anhaltspunkte für diese Annahme sind jedoch erst für einige wenige Arten erbracht (13,126,199,200).

Ueberwiegend spekulativen Charakter besitzen auch die Ansichten, die über die Bedeutung der Aminosäureexkretion bei parasitischen Helminthen vertreten werden. Bei freilebenden Wirbellosen ist die Ausscheidung bestimmter Aminosäuren, besonders Alanin, ein weitverbreitetes Phänomen (203-204). Sie dient vielen Crustaceen und Mollusken zur Eliminierung des Aminostickstoffes, wobei das Kohlenstoffskelett dem Kohlenhydratstoffwechsel entnommen wird. Mit parasitischen Helminthen durchgeführte Kohlenstoffbilanzen zeigen, dass Aminosäuren als Endprodukte von Kohlenhydratfermentationen wohl kaum eine grössere Rolle spielen können. Die Exkretion bestimmter Aminosäuren dürfte eher im Zusammenhang mit speziellen Stoffwechselleistungen zu sehen sein, für die nicht-kohlenhydratartige Verbindungen als Substrate eingesetzt werden.

Beispiele dafür sind die Exkretion von Prolin und Alanin durch Fasciola hepatica und Schistosoma mansoni (200,205,206). Diese Aminosäuren zeigen mit Abstand die höchsten Konzentrationen im intrazellulären Aminosäure-Pool der beiden Trematoden und werden in grossen Mengen von diesen Parasiten ausgeschieden.

Die Bildung von Prolin und Alanin scheint vorwiegend vom Arginin auszugehen (Abb.23), das von den erwähnten Parasitenarten bevorzugt und in relativ grossen Mengen aufgenommen wird. Die für diese Art der Argininumwandlung typischen Enzyme Ornithin- δ -Transaminase (EC 2.6.1.13) und Δ' -Pyrrolin-carboxylat-Reduktase (E.C. 1.5.1.2.) sind in Fasciola hepatica in vergleichsweise hohen Konzentrationen vorhanden, während die den Prolinabbau katalysierenden Enzyme, Δ' -Pyrrolin-5-carboxylat-Dehydrogenase (EC 1.2.1a) und Prolin-Oxidase (EC 1.4.3.2) abwesend zu sein scheinen (207,208).

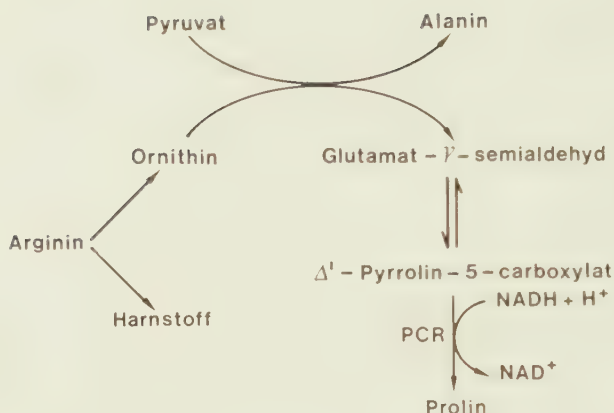


Abb.23. Argininverwertung und Prolinbildung in *Fasciola hepatica* (vereinfacht nach Kurelec,13). PCR = Δ^1 -Pyrrolin-5-carboxylat-Reduktase.

Die Bedeutung der Bildung von Prolin und Alanin in Quantitäten, die den Bedarf an diesen Aminosäuren für die Proteinsynthese bei weitem überschreiten, ist bisher noch unklar. Wie Abb.23 zeigt, bietet das Prolin-bildende Stoffwechsel-System im grossen Leberegel einen zusätzlichen Mechanismus zur Regeneration von NAD⁺. Darüber hinaus kann damit die Bildung einiger weiterer wichtiger Aminosäuren, wie z.B. Alanin und Glutaminsäure, verknüpft werden. Es fällt jedoch schwer anzunehmen, hierin die physiologische Bedeutung dieses spezifischen Stoffwechselweges zu sehen, da sowohl für die Reoxidation von NADH als auch für die Bildung von Aminosäuren andere Mechanismen in ausreichendem Umfang zur Verfügung stehen.

Nach neueren Untersuchungen könnte die Prolinbildung eine wichtige physiologische Funktion ausserhalb des Parasiten erfüllen. Isseroff

und Mitarb. (209) haben festgestellt, dass der Prolingehalt in der Gallenflüssigkeit von Rindern, Kaninchen und Ratten nach Infektion mit Fasciola hepatica drastisch ansteigt. Neueste Ergebnisse derselben Arbeitsgruppe (210) haben Anhaltspunkte dafür ergeben, dass durch Prolin die Zellproliferation der Gallengang-Endothelien angeregt wird, und diese Aminosäure damit für die Auslösung der bei Fasciola hepatica-Infektionen zu beobachtenden pathophysiologischen Vorgänge mit verantwortlich ist. Für den Parasiten ist dies von grosser Bedeutung, da erst durch spezifische Veränderungen des Gallengang-Gewebes die Voraussetzungen für eine Ansiedlung des Parasiten im Wirt geschaffen werden. Der geschilderte Befund über die Wirkung des Prolins würde - mit Ausnahme immunologischer Prozesse - zu den wenigen Beispielen gehören, in denen ein konkreter Zusammenhang zwischen einer spezifischen Stoffwechselleistung eines Parasiten und den durch diesen verursachten Veränderungen im Wirtstier hergestellt werden konnte.

4.7. Kompartimentierung und Membrantransport

Eine wesentliche Voraussetzung für den ungestörten Ablauf der komplexen Zellstoffwechselvorgänge in eukaryotischen Organismen ist die Unterteilung der Zelle in verschiedene Kompartimente. Für die Wege der Energiegewinnung sind dafür in erster Linie das Cytosol und der mitochondriale Raum von Bedeutung. Beide Kompartimente sind durch die innere Mitochondrienmembran voneinander getrennt, die ausgeprägt selektive Permeabilitätseigenschaften besitzt. Obwohl heute kein Zweifel mehr darüber besteht, dass die morphologische Organisation der Mitochondrien parasitischer Helminthen derjenigen der Mitochondrien freilebender Tiere sehr ähnlich ist, ist die funktionelle Bedeutung dieser Organellen in vielen Fällen noch ziemlich unklar. Dies gilt vor allem für Mitochondrien solcher Helminthen, die ihre Substratverwertung praktisch ausschliesslich durch Lactatfermentation bewerkstelligen. So sind z.B. bestimmte Gewebe des Homolactatbildners Dipetalonema viteae reichlich mit Mitochondrien ausgestattet. Wie Abb.24 zeigt, sind diese Organellen ausgeprägt strukturiert und enthalten eine grosse Anzahl lamellär ausgebildeter Cristae. Aufgrund ihrer morphologischen Charakteristik sollten diese Organellen deshalb zu respirato-

rischen Leistungen befähigt sein. Die Tatsache, dass Dipetalonema viteae in vitro Kohlenhydrat ausschliesslich glykolytisch verwertet,

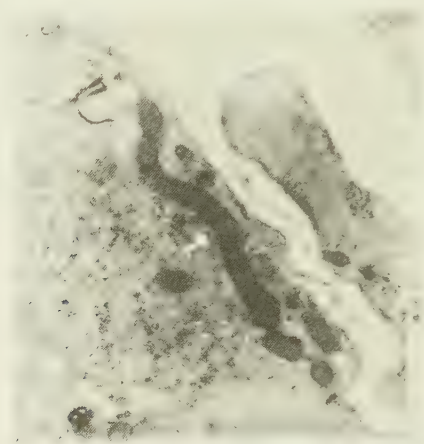


Abb.24. Mitochondrien (Pfeile) in der Muskulatur von Dipetalonema viteae x 6300. (Die elektronenmikroskopische Aufnahme wurde freundlicherweise von Dr. R. Rew zur Verfügung gestellt).

Weist aber darauf hin, dass intramitochondriale Mechanismen der Energiegewinnung aus Kohlenhydratvorstufen offenbar nicht funktionstüchtig sind. Aehnliche Verhältnisse dürften auch bei anderen Homolactatfermentern vorliegen. Eine mögliche Erklärung dafür wäre, dass die Mitochondrien dieser Organismen nur unter den spezifischen Bedingungen ihrer natürlichen Umgebung im Wirtstier zu einem über Pyruvat hinausgehenden Substratabbau befähigt sind. Es wäre auch denkbar, dass die Präsenz dieser Organellen vorwiegend für die nicht-katabolen intramitochondrialen Stoffwechselprozesse von Bedeutung ist. In diesen Bereich fallen die Verwertung von Aminosäuren, vorbereitende Schritte der Gluconeogenese und die Kettenverlängerung von höheren Fettsäuren.

Ueber die komplizierten metabolischen und regulatorischen Wechselwirkungen zwischen Cytosol und Mitochondrien in den Geweben von parasitischen Helminthen ist bisher ebenfalls sehr wenig bekannt. Untersuchungen

an Ascaris geben jedoch zu der Vermutung Anlass, dass parasitische Helminthen wie die höheren Tiere über Mechanismen verfügen, die den Fluss von Energie, Metaboliten und Ionen zwischen beiden Kompartimenten ermöglichen. Der Adeninnucleotid-Translokator wurde von Beis und Barrett (211) und die Trägertransport-Systeme für Dicarboxylate, Oxoglutarat und Phosphat von Köhler (115) in Ascaris-Muskel-Mitochondrien nachgewiesen. Köhler und Saz (141,166) konnten auch zeigen, dass die offenbar für alle Mitochondrien gültige Eigenschaft, Pyridinnucleotide nicht permeieren zu lassen, auch für Ascaris zutrifft. Der Transport von Coenzym-gebundenem Wasserstoff kann somit auch für Ascaris nur indirekt erfolgen.

In den vorangegangenen Ausführungen wurde darauf hingewiesen, dass die Wasserstoffbilanz in Helminthen beim Ablauf der verschiedenen fermentativen Prozesse extra- und intramitochondrial ausgeglichen gehalten werden kann. Ein Austausch von Reduktionsäquivalenten zwischen beiden Kompartimenten erscheint somit nicht notwendig. Synthetische Reaktionen und die Verwendung von Sauerstoff als Elektronenakzeptor können die metabolische Situation in der Zelle aber so verändern, dass zur Aufrechterhaltung des Redoxgleichgewichts ein Transport von Wasserstoff durch die Mitochondrienmembran erforderlich wird.

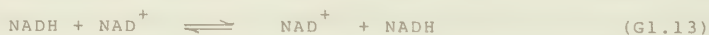
Eine Möglichkeit zur Einschleusung von Wasserstoff in den mitochondrialen Sektor bietet der Glycerolphosphat-Zyklus. Dieser "shuttle" Mechanismus, dem in der Flugmuskulatur von Insekten eine herausragende Bedeutung zukommt, dürfte auch in verschiedenen Wirbeltiergeweben wirksam sein. Untersuchungen von Köhler und Mitarb. (20,22) an Dicrocoelium dendriticum und den Tetrathyridien von Mesocestoides corti haben ergeben, dass das eine der an diesem Zyklus beteiligten Enzyme, L-Glycerol-3-phosphat-Dehydrogenase, nur in ausserordentlich geringen Konzentrationen vorliegt. Der Gehalt ist ungefähr 200 mal geringer als derjenige des Rattenleber-Enzyms. Auch in Ascaris-Muskulatur sind die Aktivitätsgehalte dieses Enzyms extrem niedrig (86). Die Präsenz eines funktionstüchtigen Glycerolphosphat-Zyklus in parasitischen Helminthen ist damit in Zweifel zu ziehen.

Andererseits scheinen die Aktivitätsgehalte der mitochondrialen L-Glycerol-3-phosphat-Oxidase (EC 1.1.99.5) denen der Wirbeltiergewebe nicht

nachzustehen. So wird z.B. L-Glycerol-3-phosphat von Taenia taeniaeformis-Mitochondrien bevorzugt gegenüber anderen Substraten oxidiert (162). Als Endprodukt dieser Reaktion tritt Dihydroxyacetonphosphat auf. Diese Ergebnisse lassen vermuten, dass in Taenia taeniaeformis der Glycerolphosphat-Zyklus wirksam ist.

Andere Mechanismen zum Transport von Wasserstoff durch die Mitochondrienmembran sind in höheren Tieren der Malat-Oxalacetat-, der Malat-Aspartat und der Malat-Citrat-Zyklus. Wasserstoffträger ist in allen Fällen Malat, das über das Dicarboxylat-Transportsystem die mitochondriale Permeabilitätsschranke überwinden kann. Wichtige Bestandteile dieser "shuttle"-Systeme sind die Malat-Dehydrogenasen innerhalb und ausserhalb des Mitochondrions, die entweder durch Dehydrogenierung Wasserstoff freisetzen und auf NAD^+ übertragen oder im anderen Falle durch Reduktion von Oxalacetat Coenzym-gebundenen Wasserstoff in Form von Malat binden. Die Hilfsenzyme für diese Transportmechanismen sind in parasitischen Helminthen vorhanden. Die Funktionstüchtigkeit der erwähnten Zyklen erscheint jedoch zumindest für diejenigen Arten unwahrscheinlich, in denen die Malatverwertung durch eine Dismutation zu Pyruvat und Succinat bestimmt wird.

Nach Köhler und Saz (141,212,213) besteht der entscheidende Transportmechanismus für Reduktionsäquivalente in Ascaris-Mitochondrien in einer Transhydrogenierung. Das dafür notwendige Enzym ist eine an die innere Mitochondrienmembran gebundene NADH:NAD^+ -Transhydrogenase (DD-TH), durch die der Austausch von Hydridionen zwischen NADH und NAD^+ gemäss Gl.13 vermittelt wird. DD-TH gehört zu den aktivsten



Enzymen des Ascaris-Muskels (141). Das Enzym besitzt eine absolute Spezifität für das NADH/NAD^+ -System, und seine Aktivität ist nicht eine Eigenschaft der ebenfalls membrangebundenen NADH-Dehydrogenase (166). Eine Besonderheit liegt ausserdem darin, dass DD-TH die einzige Transhydrogenase-Aktivität des Ascaris-Mitochondrions darstellt. In Wirbeltieren kommen daneben andere Transhydrogenase-Aktivitäten vor. Die herausragende Rolle dürfte dabei das $\text{NADP}^+/\text{NADH}$ -abhängige Enzym spielen, das - je nach Stoffwechsellaage - entweder für die Bildung

von NADPH durch transmembrane Wasserstoffübertragung von intramitochondrialem NADH auf extramitochondriales NADP^+ sorgt oder überschüssigen, an NADP^+ gebundenen Wasserstoff einer Oxidation durch die Atmungskette zuführt. Das Fehlen dieser Transhydrogenase in Ascaris kann damit erklärt werden, dass in diesem Parasiten $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$ -abhängige Stoffwechselprozesse nur eine untergeordnete Bedeutung haben. So ist z.B. die Synthese von Fettsäuren, für die Reduktionsäquivalente in Form von NADPH bereitgestellt werden müssen, nicht möglich (vgl. dazu S.5).

Einen Hinweis auf die Fähigkeit der Ascaris-DD-TH, den Transport von Hydridionen durch die innere Mitochondrienmembran zu katalysieren, lieferte die Beobachtung, dass intakte Mitochondrien des Nematoden extern angebotenes NADH oxidieren können (141,213). Als Wasserstoff-Akzeptoren können dafür Sauerstoff und Fumarat verwendet werden. Die Möglichkeit der NADH-Oxidation durch eine im äusseren mitochondrialen Kompartiment befindliche Dehydrogenase (214,215) ist für das Ascaris-System unwahrscheinlich. Untersuchungen von Köhler (162) deuten daraufhin, dass der primäre Akzeptor für den NADH-Wasserstoff, NADH-Dehydrogenase, matrixorientiert auf der inneren Mitochondrienmembran lokalisiert ist. Für die Reoxidation von externem NADH wird somit ein Membrantransport der Reduktionsäquivalente notwendig. Eine direkte Einschleusung von NADH in das innere mitochondriale Kompartiment ist - wie bereits ausgeführt - auch für Ascaris nicht möglich (141).

Die vermutete physiologische Bedeutung der DD-TH als Wasserstoff-Translokator zu dienen, konnte durch Inhibitorversuche erhärtet werden. In submitochondrialen Partikeln aus Ascaris-Muskulatur bewirkten niedrige Konzentrationen von Mersalyl und Stibophen eine Hemmung der Transhydrogenierung, ohne dass dabei die Aktivität der NADH-Oxidase merklich beeinträchtigt wurde (166). Bei Verwendung vergleichbarer Konzentrationen der erwähnten Hemmstoffe waren intakte Mitochondrien von Ascaris dagegen nicht zu einer NADH-Oxidation befähigt (Abb.25). Dies kann als eine Folge der DD-TH-Hemmung und damit der Unterbindung des Wasserstoff-Transports durch die mitochondriale Permeabilitäts-schranke interpretiert werden.

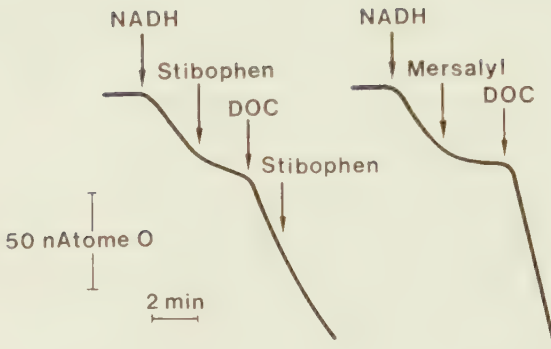


Abb.25. Der Einfluss von Stibophen und Mersalyl auf die NADH-Oxidation in intakten Ascaris-Muskelmitochondrien (nach Köhler, 1966). DOC = Desoxycholat.

Jüngste Untersuchungen über die Enzymverteilung in Ascaris-Muskel-Mitochondrien haben ergeben, dass die Aktivität des Malatenzyms nicht, wie in Wirbeltiermitochondrien, ausschliesslich in der Matrix, sondern zu einem grossen Anteil in demjenigen Kompartiment vertreten ist, das durch die äussere und innere mitochondriale Membran begrenzt wird (179,192) (Tab.IX). Als Folge davon ist die Bildung von NADH im äusseren mitochondrialen Reaktionsraum zu erwarten. Der überzeugende experimentelle Beweis für die biologische Bedeutung der DD-TH steht bisher noch aus. Die bereits erhaltenen Befunde sprechen jedoch dafür, dass durch die Wirkung dieses Enzyms im externen Kompartiment gebildetes NADH einer Reoxidation im Matrixraum zugänglich gemacht werden kann. Dieser Vorgang könnte durch eine Kopplung von Transhydrogenierung mit den Reaktionen des ETS erreicht werden (Abb.26).

Tab.IX. Die Verteilung von Enzymen des energieliefernden Stoffwechsels in Ascaris-Muskelmitochondrien (nach Köhler und Gisler, 192).

Kompartiment	AK	ME	FUM	CS	SDH	Protein
% der Gesamtaktivität						
Aeussere Membran	2.6	0.4	4.5	0.5	17.8	15.1
Intercristalraum	91.7	49.6	7.1	22.2	2.2	25.7
Innere Membran	1.6	6.9	10.5	0	73.3	29.3
Matrix	4.2	43.1	77.9	77.8	6.7	29.9

AK, Adenylat-Kinase; ME, Malatenzym; FUM, Fumarase; CS, Citrat-Synthase; SDH, Succinat-Dehydrogenase

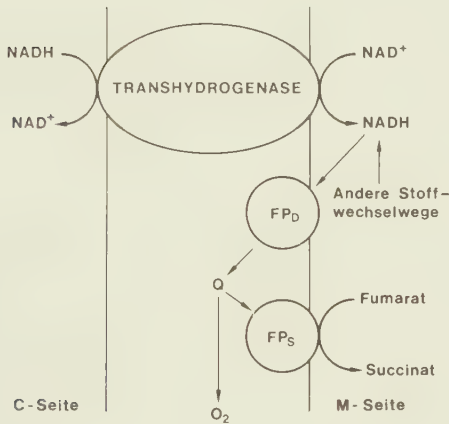


Abb.26.. Transhydrogenierung und die Wege der NADH-Oxidation in Ascaris-Muskelmitochondrien (nach Köhler, 1966). FP_D = NADH-Dehydrogenase; FP_S = Succinat-Dehydrogenase; Q = Chinon.

5. PARASITENBIOCHEMIE UND CHEMOTHERAPIE

Eines der schwierigsten Probleme der Arzneimittelforschung liegt darin, ein gezieltes Konzept zur Entwicklung von spezifisch- und hochwirksamen Chemotherapeutika zu finden. Obwohl die Idee vom sogenannten rationalen Versuch zur Chemotherapie schon vor mehr als sechzig Jahren von Paul Ehrlich ausgesprochen wurde (216), ist die Anzahl derjenigen Verbindungen, bei denen ein solches Konzept mitgewirkt hat, verschwindend klein. Die Antiparasitika, die heute für die Bekämpfung von Parasitosen zur Verfügung stehen, sind sogar ohne Ausnahme durch empirische Forschung entdeckt worden. Diese Methode hat eine grössere Anzahl hochwirksamer Antiparasitika mit zum Teil grossem Aktivitätsspektrum hervorgebracht. Uneingeschränkt befriedigende Eigenschaften besitzt jedoch keines dieser Mittel, und verschiedene parasitäre Infektionen sind bisher entweder überhaupt nicht oder nur in begrenztem Umfang chemotherapeutisch beeinflussbar.

Eine Verbesserung dieser Situation kann durch eine gezielte Entwicklung von neuen chemotherapeutischen Prinzipien erreicht werden. Notwendige Voraussetzung hierfür sind eine gute Kenntnis der physiologischen und biochemischen Eigenheiten der Erreger, aber auch der molekularen Mechanismen, die der chemotherapeutischen Wirkung bestimmter Antiparasitika zugrundeliegen. Derzeitig ist für kein einziges Mittel der primäre Wirkungsmodus mit Sicherheit bekannt. Die bisherigen Daten lassen jedoch erkennen, dass die Wirkungen der verschiedenen Antiparasitika bestimmten Stoffwechselbereichen zugeordnet werden können, deren Störung oder Hemmung zu einer empfindlichen Beeinträchtigung der Vitalität des Parasiten führen. Hierzu zählen vor allem der energieliefernde Stoffwechsel, der Stoffwechsel der Nucleotide und die Nucleinsäure-Synthese, die Synthese essentieller Cofaktoren, membranbildende Strukturen und deren Funktionen sowie Systeme, die für Koordinationsaufgaben eines Vielzelllers benötigt werden.

Im Folgenden werden einige wichtige neuere Ergebnisse, die im Zusammenhang mit Untersuchungen über die Wirkungen von Antiparasitika auf den energieliefernden Stoffwechsel von Protozoen und Helminthen erhalten wurden, zusammengefasst und ihre Beziehungen zur chemotherapeutischen Aktivität diskutiert. Abschliessend werden einige mögliche Strategien

zur Verwirklichung eines gezielten Konzeptes in der Antiparasitika-forschung erörtert.

Ein für die Chemotherapie bestimmter Protozoen interessantes enzymatisches System ist die GPO der Blutstromformen afrikanischer Trypano-soma-Arten. Da dieses Enzym eine herausragende Rolle im Stoffwechsel der Trypanosomen spielt (vgl. Abschnitt 3), im Wirbeltierwirt aber nicht vorkommt, sollte seine Hemmung zu einer wirksamen und selektiven Beeinträchtigung der Lebensvorgänge dieser Parasiten führen.

Bowman und Fairlamb (57) fanden kürzlich, dass Suramin (Abb.27), ein schon seit langem bekanntes Trypanosomenmittel, ein potenter Hemmstoff des GPO-Systems ist. Die Hemmwirkung erfolgt kompetitiv

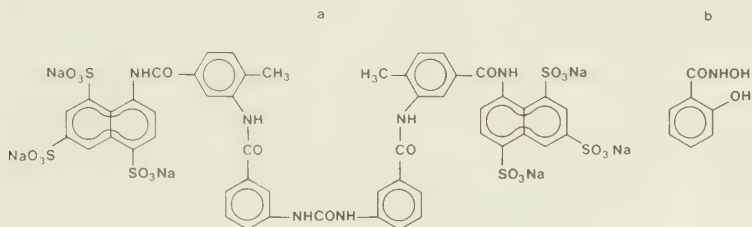


Abb.27. Suramin (a) und Salicylhydroxamsäure (b), Hemmstoffe der Glycerolphosphat-Oxidase afrikanischer Trypanosomen.

zum Substrat L-Glycerol-3-phosphat (Abb.3) und ist ausserordentlich spezifisch. Geringfügige Strukturveränderungen, wie z.B. die Entfernung der Methyl- (Desmethyl-Suramin) oder einiger Sulfonat-Gruppen (monosulfoniertes Suramin) führen bereits zu einer starken Verminderung des Hemmeffektes. Untersuchungen über die Struktur-Wirkungsbeziehungen Suramin-analoger Verbindungen haben eine gute Korrelation zwischen dem therapeutischen Effekt der Verbindungen und ihrer inhibitorischen Wirkung auf das GPO-System ergeben (57,272). Die Beeinflussung des GPO-Systems dürfte deshalb einen wesentlichen Beitrag zur chemotherapeutischen Aktivität des Suramins liefern. Sie

kann aber offenbar nicht allein seine trypanosomizide Wirkung erklären. Diese Annahme stützt sich auf die Beobachtung, dass Blutstrom-Trypanosomen des *brucei*-Artenkomplexes auch nach Ausschaltung der Funktionstüchtigkeit des GPO-Systems, z.B. unter Anaerobiose, lebensfähig sind (24) und somit noch über einen von GPO unabhängigen Weg zur Synthese von chemischer Energie verfügen müssen (vgl. Abb.3).

Zum gleichen Ergebnis führten Inhibitorversuche mit verschiedenen Benzhydroxamaten. Evans und Brown (217,218) haben zeigen können, dass die GPO und somit die Atmung von *Trypanosoma brucei* durch niedrige Konzentrationen von Salicylhydroxamsäure (SHAM, Abb.27) gehemmt werden kann. Unter den gleichen Bedingungen wurde jedoch nur eine geringfügige Beeinträchtigung der Motilität beobachtet, und die ATP-Konzentration in den Parasiten wurde nur auf etwa die Hälfte ihres Normalwertes reduziert (58) (Tab.X). Erwartungsgemäss konnte deshalb mit SHAM auch kein therapeutischer Effekt gegenüber dem Verlauf einer Trypanosomen-Infektion bei Ratten erzielt werden (219,220).

Tab.X.

Die Wirkung von SHAM und Glycerol auf den ATP-Gehalt und die Motilität der Blutstromformen von *Trypanosoma brucei* (nach Oppenheims und Borst, 58).

Inkubationsbedingungen	Motilität	ATP-Gehalt [*]
Komplettes System (1)	+	2.4
+ 1 mM SHAM (2)	+	1.0
+ 55 mM Glycerol	+	1.0
+ 1 mM SHAM/55 mM Glycerol	-	0.2

Die Inkubationszeit betrug 15 min. In den Experimenten (1) und (2) war 180 mM Glucose im Medium zugegen. ^{*} In nMol pro mg Protein angegeben.

Eine vollständige Hemmung der Motilität und eine weitgehende Unterbindung der ATP-Synthese durch SHAM gelang erst bei gleichzeitiger Gegenwart von Glycerol (219,220 (Tab.X). Die Verabreichung dieser

Inhibitor-Kombination an Ratten, die mit hohen Dosen von Trypanosoma brucei-Zellen infiziert worden waren, führte bereits nach wenigen Minuten zur Zerstörung der Parasiten. Die Wirkung des Glycerols besteht dabei offensichtlich darin, die Reaktionen des anaeroben bzw. durch GPO-Hemmung aktivierten Stoffwechselweges zu unterbinden (24) (Abb.3). In diesem wird Glucose zu äquimolaren Mengen Pyruvat und Glycerol fermentiert. Da die Aenderung der freien Energie über den gesamten Reaktionsverlauf gering ist, kann angenommen werden, dass extern zugeführtes Endprodukt (Glycerol) die Gleichgewichtslage des Stoffwechselsystems so verändert, dass die Rückreaktion begünstigt ablaufen und damit der anaerobe Glucoseabbau unterbunden werden kann (Abb.3).

Das Glycerol-SHAM-System hat in der bisher angewendeten Form für die Chemotherapie der Trypanosomiasis vorerst noch keine praktische Bedeutung, da die Parasitämie kurze Zeit nach der Behandlung aus bisher noch nicht klar ersichtlichen Gründen zurückkehrt (220). Das Modell-experiment zeigt aber, dass die Kenntnis des Parasitenstoffwechsels zur Entwicklung eines Hemmstoff-Systems führen kann, das in einem konventionellen "screening"-Programm niemals hätte gefunden werden können, da die Einzelverbindungen Glycerol und SHAM allein keine messbare trypanosomizide Wirkung ergeben.

Zu den wenigen Protozoenmitteln, über deren molekulare Wirkungsweise schon konkretere Anhaltspunkte vorliegen, gehören auch bestimmte Derivate des 5-Nitroimidazols (Abb.28), die eine toxische Wirkung

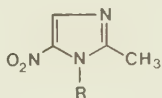


Abb.28. 5-Nitroimidazole, Antiprotozoika durch Reaktion mit dem Pyruvat-Synthase/Oxidase-System. Metronidazol (R = HOCH₂-CH₂-); Tinidazol (R = C₂H₅-SO₂-CH₂-CH₂-); Ornidazol (R = ClCH₂-CHOH-CH₂-).

auf Amöben, Trichomonaden und Lamblien zeigen. Die Verbindungen, die zur Zeit für die Behandlung der Amöbiasis und Trichomoniasis des Menschen Verwendung finden, werden von den Protozoen rasch aufgenommen und führen zu einer schnellen Zerstörung der Parasiten. Zellen von Wirbeltieren werden durch therapeutische Dosierungen dieser Pharmaka nicht beeinträchtigt (221).

Die Ergebnisse einer grösseren Anzahl von Untersuchungen haben inzwischen gezeigt, dass der therapeutische Effekt dieser Verbindungen nicht durch die Nitrogruppen-haltigen Pharmaka selbst ausgelöst wird. Diese müssen vielmehr in den parasitischen Protozoen erst in hochwirksame Zellgifte umgewandelt werden. Hierfür ist ein metabolisches Prinzip des energieliefernden Stoffwechsels verantwortlich, das den erwähnten Protozoen gemeinsam ist, aber anderen tierischen Lebewesen fehlt. Nach Untersuchungen von Müller et al. (222) und Coombs (223) kann die Nitrogruppe des Imidazolrings in einer nicht-enzymatischen Reaktion als Elektronen-Akzeptor für reduziertes Ferredoxin oder Flavodoxin dienen. Unter physiologischen Bedingungen dürfte daher eine Reaktion der Pharmaka mit dem Pyruvat-Synthase-System der Amöben und Trichomonaden zu erwarten sein, dessen Aktivität von einem Doxin-artigen Coenzym abhängig zu sein scheint (Abb.29, vgl. Abschnitt 3). Obwohl höhere Tiere und der Mensch ebenfalls über Mechanismen zur Reduktion von Nitrogruppen verfügen, stellen die erwähnten Verbindungen offenbar keine geeigneten Substrate für diese Reaktion dar. Aufgrund unserer bisherigen Kenntnisse erfolgt ihre Metabolisierung im Wirbeltierwirt ausschliesslich unter Beibehaltung der heterozyklischen Nitrogruppe (276,277).

Die chemische Natur und Wirkungsweise des für den toxischen Effekt

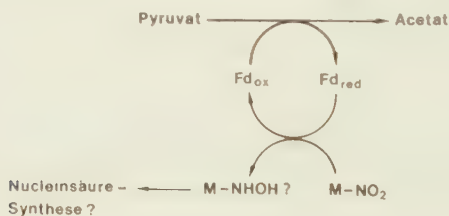


Abb.29. Molekulare Wirkungsweise von Antiprotozoika mit 5-Nitroimidazolstruktur (modifiziert nach Coombs,223). M-NO₂ = Metronidazol.

verantwortlichen Reduktionsproduktes sind bisher unbekannt. Die Versuche lassen jedoch erkennen, dass es sich dabei um ein kurzlebiges, frühes Zwischenprodukt des Reduktionsvorgangs handeln muss (224). In diesem Zusammenhang sei auf die cytostatische Wirkung von Nitroso- und Hydroxylammonium-Verbindungen durch Hemmung der DNS-Synthese verwiesen. Hinweise auf eine Beeinträchtigung des Nucleinsäure-Stoffwechsles durch Metronidazol in Entamoeba histolytica liegen bereits vor (225).

Zu den Protozoenmitteln, deren beobachtete Effekte auf biochemische Mechanismen des Parasiten eine mögliche Erklärung für ihre chemotherapeutische Aktivität sein kann, gehören auch bestimmte Derivate des Chinolons (Abb.30). Die aus dieser Verbindungsklasse hervorgegangenen Breitspektrum-Anticoccidika Buquinolat, Methylbenzoquat, Decoquinat und Amquinat zeigen in niedriger Konzentration (10^{-6} - 10^{-5} M)

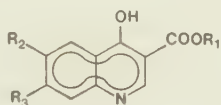


Abb.30. 4-Hydroxychinoline, Anticoccidika durch selektive Hemmung des mitochondrialen Elektronentransports von Eimeria-Arten. Buquinolat ($R_1 = C_2H_5-$, R_2 und $R_3 = (CH_3)_2CHCH_2O-$); Methylbenzoquat ($R_1 = CH_3-$, $R_2 = C_4H_9-$, $R_3 = C_6H_5-CH_2CO-$); Decoquinat ($R_1 = CH_3-$, $R_2 = C_{10}H_{21}-$, $R_3 = C_2H_5O-$); Amquinat ($R_1 = CH_3-$, $R_2 = C_3H_7-$, $R_3 = (C_2H_5)_2N-$).

eine deutliche Atmungshemmung von Eimeria tenella während der Sporulation und Excystierung (274). Untersuchungen von Wang (275,276) an Eimeria-Oozysten haben ergeben, dass dafür eine Blockierung des mitochondrialen Elektronentransports in der Region des Cytochroms b verantwortlich ist. Eine 50%ige Hemmung des Succinat- bzw. NADH-abhängigen Elektronentransports wurde mit Inhibitor-Konzentrationen von 10^{-8} M erreicht. Für eine vergleichbare Hemmung der Atmungskette von Mitochondrien aus Amquinat-

resistenten Eimeria tenella-Mutanten waren um zwei Zehnerpotenzen höhere Präparate-Konzentrationen notwendig, und die mitochondriale Atmung von Hühnchenleber-Mitochondrien blieb auch in Gegenwart noch höherer Hemmstoff-Konzentrationen praktisch unbeeinträchtigt. Obwohl der genaue Wirkungsmechanismus auch für die Chinolon-Antiparasitika noch nicht klar ist, scheint es hier immerhin gelungen zu sein, den für die chemotherapeutische Wirkung verantwortlichen Rezeptorbereich nachzuweisen und einige seiner Eigenschaften zu beschreiben.

Mit einer gründlichen und systematischen Analyse der Wirkungsweise von Anthelminthika wurde erst nach dem Zweiten Weltkrieg begonnen, vor allem aus dem Zwang heraus, eine gezielte Entwicklung von anthelminthisch wirksamen Arzneimitteln anzustreben. Aus dieser Zeit stammt auch die Entdeckung, dass trivalente organische Antimonverbindungen, die älteste Gruppe von Substanzen, die als Chemotherapeutika gegen die Schistosomiasis eingesetzt werden, eine selektive Hemmung der Schistosomen-Phosphofruktokinase bewirken (42,106,226-228). Als Erklärung für den therapeutischen Effekt dieser Verbindungen wird daher die Unterbindung der Parasiten-Glykolyse angesehen. Für eine fast nicht mehr überschaubare Anzahl anderer Anthelminthika sind zwar ebenfalls Effekte auf verschiedene zellphysiologische Prozesse beobachtet worden (228,229), diese scheinen aber in vielen Fällen entweder Folgereaktionen von bisher noch unbekannten primären Angriffsmechanismen zu sein, oder sie haben mit der chemotherapeutischen Aktivität überhaupt nichts zu tun.

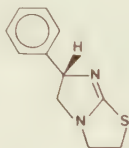


Abb.31. Levamisol, Breitspektrum-Anthelminthikum durch selektiv ganglienblockierende Eigenschaften.

Im Jahre 1967 stellten van den Bossche und Janssen (230) fest, dass Tetramisol in vitro die NADH-Fumarat-Reduktase (im folgenden Fumarat-Reduktase genannt) von Ascaris-Muskulatur hemmt, wobei sich der linksdrehende optische Antipode, das Levamisol (Abb.31), gegenüber der rechtsdrehenden Form, dem Dexamisol, als wirksamer erwies. Da dem Fumarat-Reduktase-System eine Schlüsselfunktion im energieliefernden Stoffwechsel vieler Helminthen zukommt (vgl. Abschnitt 4), für das kein biochemisches Aequivalent im Wirtstier vorhanden ist, glaubte man zunächst in dem beobachteten Befund die Erklärung für die selektive therapeutische Wirksamkeit dieses Mittels gefunden zu haben.

In weiteren Untersuchungen wurden auch verschiedene andere Anthelminthika auf eine mögliche Hemmwirkung der Fumarat-Reduktase geprüft. Hierzu zählen vor allem die Benzimidazol-Anthelminthika (Abb.32).

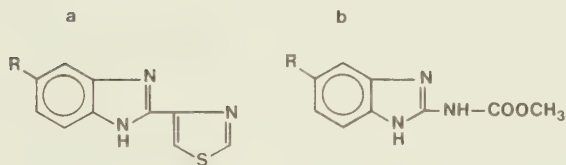


Abb.32. Benzimidazol-Derivate mit Anthelminthika-Wirkung.
a) Thiabendazol (R = H), Cambendazol (R = (CH₃)₂-CH-O-CONH-);
b) Mebendazol (R = C₆H₅-CO-), Fenbendazol (R = C₆H₅-S-), Oxi-
bendazol (R = C₆H₅-O-).

Prichard fand 1970 (231) den Fumarat-Reduktase-hemmenden Effekt von Thiabendazol und 1973 (232) denjenigen von Cambendazol in Haemonchus contortus. Nach neuesten Versuchen desselben Autors (233) hemmen verschiedene Benzimidazole, wie Thiabendazol, Cambendazol, Oxibendazol und Fenbendazol die Aktivität des Enzyms aus Haemonchus contortus in einem Konzentrationsbereich, der auch unter chemotherapeutischen in vivo-Bedingungen erreicht wird.

Die Befunde über die Wirkung der Benzimidazole auf die Fumarat-Reduktase wurden durch die Beobachtung erhärtet, dass Thiabendazol den Enzymkomplex in Thiabendazol-resistenten Stämmen von Haemonchus contortus nicht beeinträchtigt (232). In anderen Versuchen (234) blieb ein nennenswerter Hemmeffekt von Thiabendazol und Cambendazol auf die Aktivität des Enzyms Cambendazol-resistenter Haemonchus-Stämme aus. Kreuz-resistentes Verhalten wurde auch in bezug auf die chemotherapeutische Wirkung der beiden Mittel an experimentell erzeugten Cambendazol-resistenten Haemonchus-Stämmen nachgewiesen (235). Kürzlich haben weitere Autoren (236-238) über Kreuzresistenz unterschiedlichen Ausmasses bei Haemonchus contortus und Trichostrongylus colubriformis für eine grössere Anzahl Benzimidazol-Anthelminthika berichtet. Dies legt die Vermutung nahe, dass für die chemotherapeutische Aktivität der Benzimidazolverbindungen ein gemeinsamer Wirkungsmodus verantwortlich ist.

Die Tatsache, dass Levamisol die Fähigkeit zur Fumarat-Reduktase-Hemmung aber auch seine chemotherapeutische Potenz gegenüber dem Benzimidazol-resistenten Haemonchus-Stamm beibehält, macht für dieses Mittel weitere Angriffspunkte im Parasiten wahrscheinlich. Es wäre aber auch denkbar, dass sich die Wirkung des Levamisols auf die Fumarat-Reduktion von derjenigen der Benzimidazole unterscheidet.

Inzwischen konnte durch eigene Untersuchungen der genaue Hemmbezirk des Fumarat-Reduktase-Systems für Levamisol und Thiabendazol ermittelt werden (137). Die kinetische Analyse zeigte, dass die Wirkung der Antiparasitika auf das ETS durch eine Hemmung der NADH-Chinon-Reduktase-Aktivität zustande kommt. Aufgrund der Lage des Hemmbezirktes im ETS (vgl. Abb.12) werden NADH-Fumarat-Reduktase und die sauerstoffabhängige NADH-Oxidation des Parasiten-Mitochondriums gleichermaßen beeinträchtigt.

Ob die beobachteten Inhibitoreffekte für die chemotherapeutische Wirkung der untersuchten Mittel verantwortlich sind oder nicht, kann aufgrund der vorliegenden Ergebnisse noch nicht mit Sicherheit beurteilt werden. Pharmakologische Experimente haben in der Zwischenzeit ergeben, dass für die in vivo-Aktivität des Levamisols eine Wirkung auf neurophysiologische Prozesse von grösserer Bedeutung sein dürfte als diejenige auf den energieliefernden Stoffwechsel. In vitro und

in vivo induziert Levamisol eine rasche und anhaltende Kontraktion der Nematodenmuskulatur (239). Da diese durch Hexamethonium abgeschwächt (239) und durch andere ganglienblockierende Substanzen gehemmt werden kann (240,241), dürfte der paralyisierende Effekt des Mittels durch eine Ganglien-Stimulierung ausgelöst werden. Nach Meinung von Coles und Mitarb. (241) ist die rasch einsetzende Wirkung sehr niedriger Levamisolkonzentrationen (10^{-6} M) auf die neuromuskuläre Erregungsübertragung in Nematoden ausreichend, um die Entfernung der Parasiten aus Lunge und Darm des Wirtes zu gewährleisten. Ähnliche Beobachtungen wurden für Praziquantel (Abb.33) gemacht.

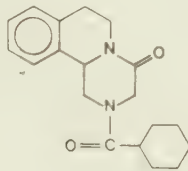


Abb.33. Praziquantel, Cestoizid und Schistosomizid durch selektive Wirkung auf Mechanismen des Ionentransports.

Dieses neue Cestoden- und Schistosomenmittel (242,243) beeinträchtigt ebenfalls das mitochondriale ETS von Ascaris suum im Sinne einer NADH-Chinon-Reduktase- und somit auch NADH-Fumarat-Reduktase-Hemmung (137). Im sehr niedrigen Hemmstoffbereich führt aber auch dieses Mittel zu starken Kontraktionen der Parasitenmuskulatur. Diese können durch Ganglienblocker und Muskelrelaxantien nicht gehemmt oder aufgehoben werden. Eine direkte Beeinträchtigung der Parasitenmuskulatur ist daher wenig wahrscheinlich. Die mögliche Ursache für die anthelmintische Aktivität von Praziquantel wird nach neuesten Untersuchungen mit einer Störung der Calcium-Transportmechanismen des Parasiten in Zusammenhang gebracht (245, 246).

Neben den bereits erwähnten sprechen noch andere Gründe gegen die Annahme, dass die chemotherapeutische Wirkung bestimmter Anthelminthika auf eine Hemmung der Fumarat-Reduktase zurückzuführen ist. Wang und Saz (100) fanden in Versuchen über den Effekt von Levamisol auf verschiedene Filarienarten eine rasche und vollständige Motilitätshemmung, obwohl diese Parasiten über kein Fumarat-reduzierendes Stoffwechsel-System verfügen. Eine vergleichbare Situation liefert der Effekt von Thiabendazol auf Nippostrongylus brasiliensis. Obwohl auch dieser Wurm keine Fumarat-Reduktase enthält (247), reagiert er empfindlich auf das Anthelminthikum. Ebensowenig ist die ovizide Wirkung von Thiabendazol auf die Eier von Nematodirus spathiger mit einer Fumarat-Reduktase-Hemmung in Verbindung zu bringen. Versuche, das Enzym in den Eiern des Nematoden nachzuweisen, blieben erfolglos (247).

Untersuchungen über den Wirkungsmechanismus von Mebendazol (Abb.32) haben gezeigt, dass dieses Mittel bei Nematoden und Cestoden die Aufnahme von Glucose und anderer Nährstoffe hemmt und die Glykogenvorräte in vitro und in vivo verstärkt mobilisiert (248,249). Diese und andere biochemische Veränderungen werden von einigen Autoren als Folgeerscheinungen der Schädigung subzellulärer Strukturen interpretiert, die für die Absorption von Nährstoffen von Bedeutung sind. Borgers und Mitarb. (250-252) haben durch umfassende Ultrastruktur-Untersuchungen die durch Mebendazol bedingten morphologischen Veränderungen im Darmepithel von Nematoden und in den Tegumentzellen von Cestoden charakterisiert. Die ersten morphologischen Veränderungen, die nach einer in vivo-Behandlung mit Mebendazol zu beobachten sind, bestehen in einer Zerstörung des cytoplasmatischen Mikrotubulus-Systems. Die Autoren nehmen an, dass in der selektiven Beeinträchtigung der Mikrotubulus-Struktur die Ursache für die nachfolgenden degenerativen Veränderungen der nicht-proliferierenden Zellen des Parasitengewebes zu suchen ist. Dies würde eine Erklärung für die durch Mebendazol hervorgerufene Beeinträchtigung der Nährstoff-Absorption sowie für die gesteigerte Glykogenmobilisierung liefern; die molekularen Reaktionsmechanismen der Arzneimittelwirkung bleiben jedoch weiterhin unklar.

Nicht in allen Helminthen treten in Gegenwart von Mebendazol die erwähnten Stoffwechsel-Symptome auf. So wurden nach Mebendazoleinwirkung auf Nematospiroides dubius keine Abweichungen in den Glykogenabbauraten gegenüber der Norm festgestellt (247), und bei Fasciola hepatica kann dieses Mittel weder eine Wirkung auf den Glykogenstoffwechsel noch auf die Penetrationsgeschwindigkeit von Glucose ausüben (253). Dagegen ergaben in vitro- und in vivo-Versuche mit dem grossen Leberegel (253-255) und mit Moniezia expansa (254-256) eine Mebendazol-abhängige Störung des Energiestatus im Sinne einer Erniedrigung der ATP-Konzentration. In vitro-Inkubationen mit Fasciola hepatica führten unter diesen Bedingungen auch zu einer starken Anhäufung von Succinat (253). Da im grossen Leberegel unter normalen physiologischen Voraussetzungen Succinat als metabolisches Zwischen- und nicht als Endprodukt auftritt, wäre demnach die Mebendazolwirkung auch im Bereich des Succinat-verwertenden Stoffwechsels, der vornehmlich zur Bildung von Propionsäure führt, zu suchen.

In vitro-Versuche mit intakten Leberegeln haben diese Vermutung inzwischen bestätigt (177). Die genaue Lokalisation der Hemmwirkung konnte jedoch noch nicht ermittelt werden.

Benzimidazol-Anthelminthika lösen somit eine Vielfalt von metabolischen Wirkungen aus, und nicht weniger vielfältig ist die Zahl der verschiedenen Parasitenarten, die durch diese Substanzen chemotherapeutisch beeinträchtigt werden kann. Es fällt deshalb schwer anzunehmen, dass die hohe Wirksamkeit dieser Mittel auf ihre Reaktion mit einem einzigen Rezeptor zurückzuführen ist. Wahrscheinlicher ist es, dass Benzimidazol-Verbindungen einen Hemmsymptomen-Komplex auslösen können und somit ihre anthelminthische Aktivität erst durch die Summe einer Reihe von Einzel-Interaktionen mit verschiedenartigen metabolischen Zielen in Erscheinung tritt.

Mit Anthelminthika ganz anderer chemischer Konstitution wurde ebenfalls eine Wirkung auf die Glucoseaufnahme von Helminthen nachgewiesen. Zu dieser Gruppe gehört das Nitrothiazol-Derivat Niridazol (Abb.34), das chemotherapeutische Wirkung gegen Schistosomen zeigt. In Versuchen von Metzger (228) waren verschiedene Glykolyse-Metabolite in Schistosoma mansoni nach Exposition in $10^{-4}M$ Niridazol bis zur Hälfte

und die ATP-Konzentration innerhalb von einigen Stunden auf ungefähr 80% der Norm erniedrigt.

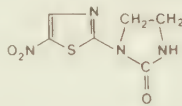


Abb.34. Niridazol, Schistosomizid.

Nach Arbeiten von Bueding und Fisher (257) führt Niridazol in vivo zu einer gesteigerten Glykogenolyse, welches auf eine Hemmung des am Glykogenstoffwechsel beteiligten Enzyms Phosphorylase a-Phosphatase zurückgeführt wird. Durch diesen vermuteten Primäreffekt wird eine höhere Konzentration des aktiven Glykogen-abbauenden Enzyms Phosphorylase a bewirkt, das seinerseits die Glykogenverarmung im Parasiten erklären soll.

Nach Versuchen von Metzger (228) erscheint die Reduktion der Glykogenspeicher jedoch eher Ausdruck einer Gegenregulation auf die gesperrte Glucosezufuhr zu sein.

Umfangreiche Analysen über die Beziehungen zwischen Struktur und Wirkung nitroheterozyklischer Verbindungen wurden von Robinson und Mitarb. (258,259) und von Bueding (226) durchgeführt. Hierbei ergaben sich gute Uebereinstimmungen zwischen der schistosomiziden Wirksamkeit der untersuchten Verbindungen und ihren strukturellen und physikalisch-chemischen Eigenschaften. Die Anwesenheit der Nitrogruppe am Heterozyklus scheint für die Hemmwirkung absolut erforderlich zu sein. Die Tatsache, dass ihr Ersatz durch Cyano-, Carboxy- oder Carboxymethylgruppen nicht zu einem graduellen Verlust der chemotherapeutischen Aktivität führt, macht aber deutlich, dass die elektronegativen Eigenschaften des Nitro-Moleküls nicht allein für seinen essentiellen Charakter ausschlaggebend sein können. Wahrscheinlich sind - in Analogie zu den Nitrogruppen-haltigen Protozoenmitteln - die durch Reduktion der Nitrogruppe entstehenden Nitroso- oder Hydroxylammonium-Derivate für die Wirkung verantwortlich.

Vertreter einer weiteren, strukturell sehr mannigfaltigen Verbindungs-
klasse, deren anthelminthische Wirkung auf einer Störung des energie-
liefernden Stoffwechsels beruht, können als substituierte Phenole auf-
gefasst werden (Abb.35). In vitro haben diese Pharmaka die Fähigkeit
zur Entkopplung der oxidativen Phosphorylierung (138,260-262). Sie

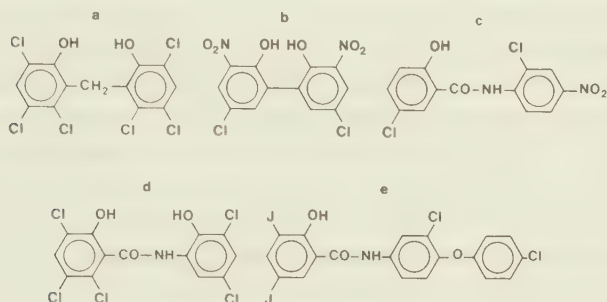


Abb.35. Dihydroxyphenole und Salicylanilide mit fasciolizider Wirkung.
(a) Hexachlorophen; (b) Niclofolan; (c) Niclosamid; (d) Oxcyclozanid;
(e) Rafoxanid.

bewirken damit eine Trennung der energieliefernden von den energie-
konservierenden Reaktionen, womit eine sehr effiziente Möglichkeit
zur Synthese von chemischer Energie verlorenggeht. Einer Abklärung
bedarf allerdings das Phänomen, dass Salicylanilide und andere substi-
tuierte Phenole nicht selektiv entkoppelnd auf die Phosphorylierung
der Parasitenmitochondrien wirken, sondern auch potente Entkoppler
der oxidativen Phosphorylierung in Säugetiermitochondrien darstellen.

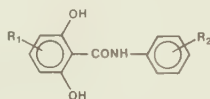


Abb.36. 2,6-Dihydroxybenzoesäureanilide.

Metzger und Düwel (265,266) fanden bei ihren Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Struktur und Wirkung einer grösseren Zahl von Hydroxybenzoesäureaniliden, dass diejenigen Verbindungen, die gute fasziolizide Aktivität besitzen, eine stark hemmende Wirkung auf die Succinat-Dehydrogenase des Parasiten ausüben. Da dieses Enzym im Leber-egel bevorzugt als Fumarat-Reduktase wirkt und somit für die Bildung von chemischer Energie von grosser Bedeutung für den Parasiten ist, bietet sich hiermit eine weitere Möglichkeit zur Erklärung der chemo-therapeutischen Wirksamkeit substituierter Phenole an. Allerdings stellten die Autoren fest, dass das Enzym der Säugetiermitochondrien ebenfalls durch Benzoesäureanilide beeinflussbar ist. Der statistische Vergleich der Hemmkonstanten des Rattenherz- und Leberegelenzym mit der in vivo-Wirkung der untersuchten Verbindungen liess eine Korrelation zwischen biochemischen und chemotherapeutischen Parametern nicht erkennen. Hohe Quotienten der Hemmkonstanten (K_1 Rattenherz-/ K_2 Leberegel-enzym) bedeuten also nicht notwendigerweise eine gute und niedrige Quotienten eine schlechte chemotherapeutische Wirkung (Tab.XI).

Tab.XI. Inhibitorkonstanten von Fascioliziden für Succinat-Dehydrogenase aus *Fasciola hepatica* und Rattenherz im Vergleich zur chemotherapeutischen Wirkung der Mittel (nach Metzger und Düwel, 266).

Fasziolizid	$\frac{K_1}{K_2}$ (SDH)-R $\frac{K_1}{K_2}$ (SDH)-F	Wirkung auf <u>Fasciola</u> <u>hepatica</u> im Schaf (0.01 mMol/kg)
<u>Hydroxybenzoesäureanilide</u> (Abb. II)		
R_1	R_2	
3-H	3'm5'-di-CF ₃	0.50 +++
	4',Br	1.20 +
3-C ₃ H ₇ CO	3',5'-di-CF ₃	0.15 +++
	4'-Cl	1.48 -
3,5Cl ₂	4'-C ₄ H ₉	22.0 -
	4'-COCH ₃	15.0 ++
	4'-Cl	30.0 +++
	4'-NHCOCH ₃	66.0 -
Oxyclozanid (Abb.35)		19.0 +++
Rafoxanid (Abb.35)		1.4 +++

(SDH)-R und (SDH)-F = Succinat-Dehydrogenase des Rattenherzmuskels bzw. von *Fasciola hepatica*

Ungeachtet des umfangreichen Informationsmaterials, das uns über strukturelle, chemische und physikalische Eigenschaften von Anthelminthika und über ihre biologischen Aktivitäten zur Verfügung steht, sind bisher nur wenige Versuche zur quantitativen Erfassung der Beziehungen zwischen Struktur und Aktivität unternommen worden. Druckrey und Metzger (267) berichten über den Einfluss physikochemischer Eigenschaften verschiedener substituierter 2,6-Dihydroxybenzanilide auf die Inhibitorkonstante der Succinat-Dehydrogenase von Fasciola hepatica. Die statistische Analyse nach Hansch ergab, dass die besten Resultate durch einfache lineare Regression mit der Lipophilizitätskonstanten erhalten wurden. Eine Korrelation zu anderen molekularen Eigenschaften der Verbindungen bestand nicht.

Der zweite Versuch einer vergleichenden quantitativen Analyse zwischen Struktur und Wirkung von anthelminthisch aktiven Verbindungen stammt von Tollenaere (268). Er befasst sich mit der Wirkung substituierter Phenole auf die ATPase in Rattenleber- und die oxidative Phosphorylierung in Ascaris-Muskelmitochondrien. Von den Eigenschaften der Wirkstoffe wurden Lipophilizität, Hammett-Konstante, sterischer Parameter nach Taft und molekularer Brechungsindex in ein speziell für diese Untersuchungen konstruiertes Computer-Suchsystem eingespeist. Die statistische Analyse bestimmter selektionierter Regressionsgleichungen lieferte keine signifikanten Unterschiede zwischen den biochemischen Eigenschaften des mitochondrialen Phosphorylierungssystems von Wirbeltier und Parasit. Ein konkreter Zusammenhang zwischen der Grösse der physikalischen Parameter und der biologischen Aktivität der Verbindungen war nicht zu erkennen. Die Untersuchungen ergaben somit keine gesicherte Grundlage zur Konzeption eines substituierten Phenols hoher parasitenspezifischer Wirkung.

Die Ergebnisse und Diskussionen der vorliegenden Arbeit haben deutlich gemacht, dass parasitisch lebende Organismen über eine Vielfalt von Stoffwechselleistungen verfügen, die von den höheren und somit von den ökonomisch und medizinisch wichtigen Wirtstieren verschieden sind. Beispiele hierfür liefern die Pyruvat-Synthase- und Glycerolphosphat-Oxidase-Systeme parasitischer Protozoen und bei den Helminthen die

Mechanismen der CO_2 -Fixierung und Succinat-Bildung sowie die vielfältigen enzymatischen Wege der Fettsäure- und Alkoholfermentationen. Theoretisch können diese Unterschiede zwischen Wirt und Parasit für ein systematisches Konzept zur Entwicklung von Arzneimitteln hoher selektiver Toxizität ausgenutzt werden. Bestrebungen in dieser Richtung würden aber immer "nur" parasitenspezifische Pharmaka für das in vitro-System hervorbringen. Hierin liegen die Grenzen dieser Strategie, denn für den angestrebten therapeutischen Erfolg müssen zusätzlich biopharmazeutische und pharmakokinetische Parameter, wie Resorption, Verteilung, Metabolisierung und andere Eigenschaften der Verbindungen, in die Überlegungen mit einbezogen werden.

Möglichkeiten zur Entwicklung neuer, wirkungsvollerer Chemotherapeutika kann man sich auch durch Untersuchungen über Struktur-Wirkungsbeziehungen bereits bekannter Verbindungen erhoffen. Insgesamt gesehen sind unsere Kenntnisse in den erwähnten Forschungsrichtungen aber bisher nicht ausreichend, um in naher Zukunft eine gezielte Entwicklung von antiparasitisch wirksamen Mitteln betreiben zu können. Durchgreifende Erfolge erscheinen erst denkbar, wenn genauere Kenntnisse über die Molekularstrukturen und Eigenschaften der für einen chemotherapeutischen Angriff in Betracht kommenden "targets" sowie konkretere Vorstellungen über die biochemische Wirkungsweise wichtiger Antiparasitikagruppen und ihre pharmakokinetischen Verhaltensweisen zur Verfügung stehen werden.

Ein Alternativweg für die Entwicklung neuer Wirkstoffprinzipien liegt in der gezielten Kombination von zwei oder mehreren Verbindungen, die für sich allein keinen oder nur einen geringfügigen therapeutischen Effekt liefern, bei gleichzeitiger Verabreichung aber durch synergistische Wirkung zu einer hohen selektiven Toxizität führen können. Ein erfolgversprechender Ansatz in dieser Richtung zeigt das Benzhydroxamat/Glycerol-System (siehe S.81), das Trypanosomen in vivo rasch abzutöten vermag. Allerdings konnte damit ein Wiederauftreten der Parasitämie nicht verhindert werden. Ein möglicher Grund dafür liegt darin, dass die eine Inhibitorkomponente (Glycerol) dem Wirkstoffsystem durch Metabolisierung sehr schnell entzogen wird. Eine

Verbesserung der Wirksamkeit könnte deshalb durch Verwendung von nicht metabolisierungsfähigen Hemmstoff-Analoga erreicht werden.

Eine andere antiparasitisch hochwirksame Verbindung des in vitro-Systems, die ihre chemotherapeutische in vivo-Wirksamkeit durch rasche Inaktivierung von Seiten des Wirtes nicht genügend entfalten kann, ist Tetraäthylthiuramdisulfid (TETD). Obwohl die Beweglichkeit und Atmung von Trypanosoma brucei-Blutstromformen durch dieses Mittel in vitro sehr wirksam gehemmt wird (270), bleibt der chemotherapeutische in vivo-Effekt aus. Dies hängt möglicherweise damit zusammen, dass die Verbindung durch den Kontakt mit Blutzellen des Wirtes zerstört wird. Dadurch wird das Mittel für die Chemotherapie aber nicht uninteressant, denn auch hier könnte - wie im Falle des Glycerols - die Entwicklung von Analoga, die weniger rasch unschädlich gemacht und vielleicht sogar bevorzugt vom Parasiten aufgenommen werden können, zum Erfolg führen.

Oftmals bleibt ein chemotherapeutischer Erfolg auch deshalb versagt, weil der Wirkstoff vom Parasiten nur ungenügend oder überhaupt nicht resorbiert wird und somit sein eigentlicher Bestimmungsort nicht erreicht wird. Hierauf könnte z.B. die unterschiedliche in vivo-Wirkung verschiedener Benzimidazol-Anthelminthika beruhen. Vergleichende Untersuchungen über Struktur, Absorptionsverhalten und chemotherapeutische Wirksamkeit von Antiparasitika wären deshalb wünschenswert.

Ein neuartiges Konzept, Arzneimitteln zu einer selektiven Aufnahme durch Parasiten zu verhelfen, wurde inzwischen im Zusammenhang mit der sogenannten "lysosomalen Chemotherapie" erfolgreich experimentell erprobt (271). Hierfür werden Pharmaka an geeignete Träger, wie z.B. Nucleinsäuren oder Proteine, gebunden. Die dabei entstehenden hochmolekularen Komplexe können wegen ihrer geringen Diffusibilität nur durch Endozytose die Membranen von Zellen überwinden. Innerhalb der Zelle wird der Wirkstoff durch lysosomale Enzyme von seinem Träger abgetrennt und kann danach durch einfache Diffusion seine Wirkungszentren erreichen. Unter Verwendung von Ethidium-DNS-Komplexen ist es auf diese Weise gelungen, experimentell erzeugte Trypanosoma cruzi-Infektionen erfolgreich zu bekämpfen (271).

Ein sehr ähnlicher Mechanismus scheint bei der chemotherapeutischen Wirkung des Suramins eine Rolle zu spielen. Die Tatsache, dass - trotz der extrem grossen Empfindlichkeit des Glycerolphosphat-Oxidase-Systems gegenüber Suramin (vgl. S.80) - die Atmung intakter Blutstrom-Trypanosomen durch dieses Mittel nicht beeinflusst werden kann, macht auch hier die Wirkstoffaufnahme durch Endozytose eines hochmolekularen Komplexes wahrscheinlich (272). Als Träger kommen hier Serumproteine in Betracht, z.B. Serumalbumin, das über zwei Bindungsbezirke hoher Affinität für Suramin verfügt (273). Diese Eigenschaft der Plasmaproteine erklärt auch die lange biologische Halbwertszeit des Mittels im Blut und somit seine gegen die Trypanosomiasis gerichtete prophylaktische Wirkung.

Informationen über stoffwechselchemische Beziehungen zwischen Parasiten und ihren Wirtstieren können ebenfalls für die Entdeckung selektiv toxischer Arzneimittel von grosser Hilfe sein. Ein Beispiel hierzu liefert die Produktion von Prolin durch den grossen Leberegel (vgl. Abb.23) und die Beziehungen dieser Aminosäure zum Lebensraum des Parasiten (210). Offensichtlich ist die Ausscheidung von Prolin eine notwendige Voraussetzung für die Etablierung von Fasciola hepatica in der Leber des Wirtstieres. Ein gezielter Versuch zur Chemotherapie der Fasciolose könnte nun darin bestehen, Substanzen zu finden, durch die die biochemische Primärreaktion des Prolins am Gallengang-Endothel des Wirtes gehemmt wird. Versuche in dieser Richtung sind mit dem Prolin-Antimetaboliten 1-Acetidin-2-carbonsäure (Abb.37) bereits angelaufen (210).

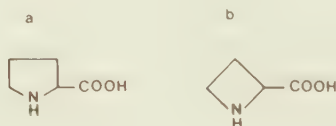


Abb.37. Prolin (a) und sein Antimetabolit 1-Acetidin-2-carbonsäure (b).

Dankadresse

Herrn Prof.Dr.J.Eckert, Direktor des Instituts für Parasitologie der Universität Zürich, danke ich für die grosszügige Förderung sowie für seine Anregungen und Beratung bei der Abfassung der vorliegenden Arbeit.

Frau S. Pletscher danke ich für die sorgfältige Ausführung der Abbildungen und Frau F. Baerfuss für die Reinschrift des Manuskripts. Dem Schweiz. Nationalfonds bin ich für die finanzielle Unterstützung meiner Forschungsarbeit zu Dank verpflichtet (Projekt-Nr.3.140.69, 3.2510.74, 3.757.76 und 429.78).

6. LITERATURVERZEICHNIS (Literatur bis 1978 berücksichtigt)

1. Agarwal, A. (1978) Malaria makes a comeback. New Scientist 2, 274-277.
2. Aspects in international health work in 1974. WHO Chronicle 29, 264-282 (1975).
3. Coles G.C. (1975) Fluke biochemistry, Fasciola and Schistosoma. Helminthol.Abstr.44, 147-162.
4. von Brand, T. (1972) Parasitenphysiologie, Gustav Fischer-Verlag, Stuttgart
5. von Brand, T. (1973) Biochemistry of Parasites, Academic Press, New York.
6. Fairbairn, D. (1970) Biochemical adaption and loss of genetic capacity in helminth parasites. Biol.Rev.(Cambridge) 45, 29-72.
7. Barrett, J. (1976) Energy metabolism in nematodes. In: The Organization of Nematodes (Croll, N.A., Ed.), S. 11-70. Academic Press, New York.
8. Barrett, J. und Körting, W. (1976) Studies on beta-oxidation in the adult liver fluke Fasciola hepatica. Int.J.Parasit.6, 155-157.
9. von Brand, T. (1976) Functional aspects of trypanosome metabolism. Tropenmed.Parasit.27, 31-33.
10. Gilles, R. (1970) Intermediary metabolism and energy production in some invertebrates. Arch.Int.Physiol.Biochim.78, 313-326.
11. Srivasta H.K. und Bowman, I.B.R. (1971) Adaption in oxidative metabolism of Trypanosoma rhodesiense during transformation in culture. Comp.Biochem.Physiol.40B, 973-981.
12. Hochachka, P.W., Fields, J. und Mustafa, T. (1973) Animal life without oxygen: Basic biochemical mechanisms. Amer.Zool.13, 543-555.

13. Kurelec, B. (1975) Molecular biology of helminth parasites. Int.J.Biochem. 6, 375-386.
14. Schiller, E.L., Bueding, E., Turner, V.M. und Fischer, J. (1975) Aerobic and anaerobic carbohydrate metabolism and egg production of Schistosoma mansoni in vitro. J.Parasit. 61, 385-389.
15. Mansour, T.E. (1959) Studies on the carbohydrate metabolism of the liver fluke Fasciola hepatica. Biochim.biophys.Acta 34, 456-464.
16. Lahoud, H., Prichard, P.K., McManus, W.R. und Schofield, P.J. (1971) Volatile fatty acid production by adult liver fluke Fasciola hepatica. Comp.Biochem.Physiol. 38B, 379-391.
17. Ryley, J.F. (1956) Studies on the metabolism of the protozoa - VII. Comparative carbohydrate metabolism of eleven species of trypanosomes. J.Biochem. 62, 215-222.
18. Opperdoes, F.R., Borst, P. und Fonck, K. (1976) The potential use of inhibitors of glycerol-3-phosphate oxidase for chemotherapy of African trypanosomiasis. FEBS Letters 62, 169-172.
19. Reeves, R.E., Warren, L.G., Susskind, B. und Lo, H.S. (1977) An energy-conserving pyruvate-to-acetate pathway in Entamoeba histolytica. J.biol.Chem. 252, 726-731.
20. Köhler, P. und Hanselmann, K. (1973) Intermediary metabolism in Dicrocoelium dendriticum (Trematoda). Comp.Biochem.Physiol. 45B, 825-845.
21. Saz, D.K., Bonner, T.P., Karlin, M. und Saz, H.J. (1971) Biochemical observations on adult Nippostrongylus brasiliensis. J.Parasit. 57, 1159-1162.
22. Köhler, P. und Hanselmann, K. (1974) Anaerobic and aerobic energy metabolism in the larvae (tetrathyridia) of Mesocostoides corti. Exp.Parasit. 36, 178-188.
23. Montalvo, F.E., Reeves, R.E. und Warren, L.G. (1971) Aerobic and anaerobic metabolism in Entamoeba histolytica. Exp.Parasit. 30, 249-256.
24. Ryley, J.F. (1962) Studies on the metabolism of the protozoa - IX. Comparative metabolism of bloodstream and culture forms of Trypanosoma rhodesiense. Biochem.J. 85, 211-223.
25. von Brand, T., Churchwell, F. und Eckert, J. (1968) Aerobic and anaerobic metabolism of larval and adult Taenia taeniaeformis: V. Glykogen ynthesis, metabolic endproducts and carbon balances of glucose and glycerol utilization. Exp.Parasit. 23, 309-318.
26. Glocklin, V.C. und Fairbairn, D. (1952) The metabolism of Heterakis gallinae. I. Aerobic and anaerobic respiration: Carbohydrate sparing action of carbon dioxide. J.cell.comp.Physiol. 39, 341-356.
27. Bueding, E. (1949) Studies on the metabolism of the filarial worm, Litomosoides carinii. J.Exp.Med. 89, 107-130.
28. Agosin, M. (1957) Studies on the metabolism of Echinococcus granulosus. II. Some observations on the carbohydrate metabolism of hydatid cyst scolices. Exp.Parasit. 6, 586-593.

29. Köhler, P. Unveröffentlicht.
30. Eckert, J. und Lehner, B. (1971) Sauerstoffverbrauch, Substrataufnahme und Lactatausscheidung von Dicrocoelium dendriticum (Trematoda). Z.Parasitenk. 37, 288-302.
31. Köhler, P. und Stahel, O.F. (1972) Metabolic end products of anaerobic carbohydrate metabolism of Dicrocoelium dendriticum (Trematoda). Comp.Biochem.Physiol. 43B, 733-741.
32. Voge, M. und Coulombe, L.S. (1966) Growth and asexual multiplication in vitro of Mesocetoides corti tetrathyridia. Amer.J.Trop. Med.Hyg. 15, 902-907.
33. von Brand, T., Weinstein, P.P., Mehlman, B. und Weinbach, E.C. (1952) Observations on the metabolism of bacteria-free larvae of Trichinella spiralis. Exp.Parasit. 1, 245-255.
34. Berntzen, A.K. und Mueller, J.F. (1964) In vitro cultivation of Spirometra mansonoides (Cestoda) from the proceroid to the early adult. J.Parasit. 50, 705-711.
35. Schiller, E.L. (1965) A simplified method for the in vitro cultivation of the rat tapeworm Hymenolepis diminuta. J.Parasit. 51, 516-518.
36. Bueding, E., Peters, L., Koletsky, S. und Moore, D.V. (1953) Effect of respiratory inhibition on Schistosoma mansoni. Brit.J. Pharmacol. 8, 15-18.
37. Cleveland, L.R. und Burke, A.W. (1956). J.Protozool. 3, 74-77.
38. Hungate, R.E. (1955) In: Biochemistry and Physiology of Protozoa Bd.2 (Hutner, S.J. und Lwoff, A., Ed.), S.159-199. Academic Press, New York.
39. Balamuth, W. (1962) J.Parasit. 48, 101-109.
40. Reeves, R.E. (1972) Carbohydrate metabolism in Entamoeba histolytica. In: Comparative Biochemistry of Parasites (van den Bossche, H., Ed.), S.351-358. Academic Press, New York.
41. Baernstein, H.D. (1954) Aldolase in Trichomonas vaginalis. Fed. Proc., Fed.Amer.Soc.Exp.Biol. 13, 177.
42. Mansour, T.E. und Bueding, E. (1954) The actions of animonials on glycolytic enzymes of Schistosoma mansoni. Brit.J.Pharmacol. 9, 459-462.
43. Cross, G.A.M. und Manning, J. (1973) Cultivation of Trypanosoma brucei spp. in semi-defined and defined media. Parasitology 67, 315-331.
44. Hirumi, H., Doyle, J.J. und Hirumi, K. (1977) African trypanosomes: Cultivation of animal-infective Trypanosoma brucei in vitro. Science 196, 992-994.
45. Trager, W. (1976) Prolonged cultivation of malaria parasites (Plasmodium coatneyi and P.falciparum). In: Biochemistry of Parasites and Host-Parasite Relationships (van den Bossche, H., Ed.), S.427-434. North-Holland, Amsterdam.

46. Trager, W. (1976) Human malaria parasites in continuous culture. Science 193, 673-675.
47. Hill, G.C. und Anderson, W.A. (1970) Electron transport systems and mitochondrial DNA in Trypanosomatidae. Exp.Parasit.28, 356-380.
48. Bowman, I.B.R., Srivastava, H.K. und Flinn, I.W. (1972) Adaptions in oxidative metabolism during the transformation of Trypanosoma rhodesiense from bloodstream into culture form. In: Comparative Biochemistry of Parasites (van den Bossche, H., Ed.), S.329-356. Academic Press, New York.
49. Brown, R.C., Evans, D.A. und Vickerman, K. (1975) Changes in oxidative metabolism and ultrastructure accompanying differentiation of the mitochondrion in Trypanosoma brucei. Int.J.Parasit.3, 691-704.
50. Bowman, I.B.R. (1974) Intermediary metabolism of pathogenic flagellates. In: Trypanosomiasis and Leishmaniasis with special Reference to Chagas' Disease. CIBA Foundation Symposium No.20, S. 255-271. North-Holland, Amsterdam.
51. Hill, G.C. (1976) Electron transport systems in Kinetoplastida. Biochim.biophys.Acta 456. 149-193.
52. Gutteridge, W.E. und Coombs, G.H. (1977) Biochemistry of Parasitic Protozoa. The Macmillan Press Ltd., London.
53. von Brand, T. (1951) Biochemistry and Physiology of Protozoa (Lwoff, A., Ed.), S.178-230. Academic Press, New York.
54. Grant, P.T. und Fulton, J.D. (1957) The catabolism of glucose by strains of Trypanosoma rhodesiense. Biochem.J.66, 242-250.
55. Grant, P.T. und Sargent, J.R. (1960) Properties of L- α -glycerol-phosphate oxidase and its role in the respiration of Trypanosoma rhodesiense. Biochem.J.76, 229-237.
56. Hill, G.C. (1976) Characterization of the electron transport systems present during the life cycle of African trypanosomes. In: Biochemistry of Parasites and Host-Parasite Relationships (van den Bossche, Ed.), S.31-50. North-Holland, Amsterdam.
57. Bowman, I.B.R. und Fairlamb, A.H. (1976) L-Glycerol-3-phosphate oxidase in Trypanosoma brucei and the effect of suramin. In: Biochemistry of Parasites and Host-Parasite Relationships (van den Bossche, H., Ed.), S.501-507. North-Holland, Amsterdam.
58. Opperdoes, F.R. und Borst, P. (1976) The effect of salicylhydroxamic acid on the glycerol-3-phosphate oxidase (GPO) of Trypanosoma brucei: Its influence on a T.brucei model infection and the intracellular localization of GPO. In: Biochemistry of Parasites and Host-Parasite Relationships (van den Bossche, H., Ed.), S.509-517. North-Holland, Amsterdam.
59. Hill, G.C. und Degn, H. In Vorbereitung.
60. Kronick, P. und Hill, G.C. (1974) Evidence for the functioning of cytochrome o in kinetoplastida. Biochim.biophys.Acta 368, 173-180.
61. Ray, S.K. und Cross, G.A.M. (1972) Branched electron transport chain in Trypanosoma mega. Nature, New Biology 237, 174-175.

62. Toner, J.J. und Weber, M.M. (1972) Respiratory control in mitochondria from Crithidia fasciculata. Biochim.biophys.Res.Comm. 46, 652-660.
63. Kusel, J.P. und Storey, B.T. (1972) Evidence for two phosphorylation sites in mitochondria isolated from the trypanosomatid hemoflagellate Crithidia fasciculata. Biochem.biophys.Res.Comm. 46, 501-507.
64. Opperdoes, F.R., Borst, P. und De Rijke, D. (1976) Oligomycin sensitivity of the mitochondrial ATPase as a marker for fly transmissibility and the presence of functional kinetoplast DNA in African trypanosomes. Comp.Biochem.Physiol. 55B, 25-30.
65. Opperdoes, F.R., De Rijke, D. und Borst, P. (1976) Reactions involved in energy transfer in trypanosomes. I. Characterization of the mitochondrial adenine nucleotide translocator and the ATPase of Crithidia luciliae. Comp.Biochem.Physiol. 54B, 7-12.
66. Müller, M. (1976) Carbohydrate and energy metabolism of Tritrichomonas foetus. In: Biochemistry of Parasites and Host-Parasite Relationships (van den Bossche, H., Ed.), S. 3-14. North-Holland, Amsterdam.
67. Lindmark, D.G. und Müller, M. (1973) Hydrogenosome, a cytoplasmic organelle of the anaerobic flagellate Tritrichomonas foetus, and its role in pyruvate metabolism. J.biol.Chem. 248, 7724-7728.
68. Ryley, J.F. (1955) Studies on the metabolism of the protozoa. 5. Metabolism of the parasitic flagellate Trichomonas foetus. Biochem.J. 59, 361-369.
69. Müller, M. (1974) Peroxisomes and hydrogenosomes in protozoa. J.Histochem.Cytochem. 11, 955-957.
70. Müller, M. und Lindmark, D.G. (1974) Enzymes involved in succinate formation in Tritrichomonas foetus. In: Abstracts of the 49th Annual Meeting of the American Society of Parasitologists, Kansas City, S.43.
71. Andrew, I.G. und Morris, J.G. (1965) The biosynthesis of alanine of Clostridium kluyveri. Biochim.biophys.Acta 97, 176-179.
72. Lindmark, D.G. (1976) Acetate production by Tritrichomonas foetus. In: Biochemistry of Parasites and Host-Parasite Relationships (van den Bossche, H., Ed.), S.15-21. North-Holland, Amsterdam.
73. Lindmark, D.G. und Müller, M. Unveröffentlicht.
74. Wittner, M. (1968) Growth characteristics of axenic strains of Entamoeba histolytica Schaudinn, 1903. J.Protozool. 15, 403-406.
75. Weinbach, E.C. und Diamond, L.S. (1974) Entamoeba histolytica: I. Aerobic metabolism. Exp.Parasit. 35, 232-243.
76. Reeves, R.E. (1968) A new enzyme with the glycolytic function of pyruvate kinase. J.biol.Chem. 243, 3202-3204.
77. Reeves, R.E. (1972) Carbohydrate metabolism in Entamoeba histolytica. In: Comparative Biochemistry of Parasites (van den Bossche, H., Ed.), S.351-358. Academic Press, New York.

78. Reeves, R.E. (1970) Phosphopyruvate carboxylase from Entamoeba histolytica. Biochim.biophys.Acta 220, 346-349.
79. Siu, P.M.L. und Wood, H.G. (1962) Fixation of CO₂ by phosphoenolpyruvic cyrboxytransphosphorylase. J.biol.Chem.236, PC 21.
80. Tanowitz, H.B., Wittmer, M., Rosenbaum, R.M. und Kress, J. (1975) In vitro studies on the differential toxicity of metronidazole in protozoa and mammalian cells. Ann.Trop.Med.Parasit.69, 19-28.
81. Takeuchi, T., Weinbach, E.C. und Diamond, L.S. (1975) Pyruvate oxidase (CoA acetylating) in Entamoeba histolytica. Biochem.biophys. Res.Commun.65, 591-596.
82. Guthrie, J.D. (1975). Unveröffentlicht.
83. Weinbach, E.C., Diamond, L.S., Claggett, C.E. und Kon, H. (1976) Iron-sulfur proteins of Entamoeba histolytica. J.Parasit.62, 127-128.
84. Prichard, R.K. und Schofield, P.J. (1968) The glycolytic pathway in adult liver fluke, Fasciola hepatica. Comp.Biochem.Physiol.24B, 697-710.
85. Köhler, P. (1972) Vergleichende Untersuchungen der Glykolyse-Enzyme von Dicrocoelium dendriticum (Trematoda) und Rattenleber. Z.Parasitenk.38, 54-65.
86. Barrett, J. und Beis, I. (1973) Studies on glycolysis in the muscle tissue of Ascaris lumbricoides (Nematoda). Comp.Biochem.Physiol.44B, 751-761.
87. Saz, H.J. und Lescure, O.L. (1967) Glyconeogenesis, fructose-1,6-diphosphatase and phosphoenolpyruvate carboxykinase activities of Ascaris lumbricoides adult muscle and larvae. Comp.Biochem.Physiol.22B, 15-28.
88. Bueding, E. und Saz, H.J. (1968) Pyruvate kinase and phosphoenolpyruvate carboxykinase activities of Ascaris muscle, Hymenolepis diminuta und Schistosoma mansoni. Comp.Biochem.Physiol.24B, 511-518.
89. Prichard, R.K. und Schofield, P. (1968) The metabolism of phosphoenolpyruvate and pyruvate in the adult liver fluke, Fasciola hepatica. Biochim.biophys.Acta 170, 63-76.
90. Bryant, C. (1975) Carbon dioxide utilisation, and the regulation of respiratory metabolic pathways in parasitic helminths. In: Advances in Parasitology (Dawes, B., Ed.), Vol.13, S.35-69. Academic Press, New York.
91. Simpson, J.W. und Awapara, J. (1967) The pathway of glucose degradation in some invertebrates. Comp.Biochem.Physiol.15B, 1-6.
92. Schöttler, U. und Schroff, G. (1976) Untersuchungen zum anaeroben Glykogenabbau in Tubifex tubifex M. J.comp.Physiol.108, 243-254.
93. Prescott, L.M. und Campbell, J.W. (1965) Phosphoenolpyruvate carboxykinase activity and glycogenesis in the flatworm Hymenolepis diminuta. Comp.Biochem.Physiol.14B, 491-511.

94. Saz, H.J. und Lescure, O.L. (1969) The functions of phosphoenolpyruvate carboxykinase and malic enzyme in the anaerobic formation of succinate by Ascaris lumbricoides. Comp.Biochem.Physiol. 30B, 49-60.
95. Nordlie, R.C. und Lardy, H.A. (1963) Mammalian liver phosphoenolpyruvate carboxykinase activities. J.biol.Chem. 238, 2259-2263.
96. Saz, H.J. (1972) Comparative biochemistry of carbohydrates in nematodes and cestodes. In: Comparative Biochemistry of Parasites (van den Bossche, H., Ed.), S.33-47. Academic Press, New York.
97. Podesta, R.B., Mustafa, T. und Moon, T.W. (1976) Anaerobes in an aerobic environment: Role of CO₂ in energy metabolism of Hymenolepis diminuta. In: Biochemistry of Parasites and Host-Parasite Relationships (van den Bossche, H., Ed.), S.81-88. North-Holland, Amsterdam.
98. Barrett, J. (1975) The occurrence and intracellular distribution of nucleosidediphosphate kinase in parasitic helminths. J.Parasit. 61, 545-546.
99. Bueding, E. und Oliver-Gonzales, J. (1950) Aerobic and anaerobic production of lactic acid by the filarial worm, Dracunculus insignis. Brit.J.Pharmacol. 5, 62-64.
100. Wang, E.J. und Saz, H.J. (1974) Comparative biochemical studies of Litomosoides carinii, Dipetalonema viteae, and Brugia pahangi adults. J.Parasit. 60, 316-321.
101. Rew, R.S. und Saz, H.J. (1977) The carbohydrate metabolism of Brugia pahangi microfilariae. J.Parasit. 63, 123-129.
102. Bryant, C. (1972) The utilization of carbon dioxide by Moniezia expansa: Aspects of metabolic regulation. In: Comparative Biochemistry of Parasites (van den Bossche, H., Ed.), S.49-79. Academic Press, New York.
103. Watts, S.D. und Fairbairn, D. (1974) Anaerobic excretion of fermentation acids by Hymenolepis diminuta during development in the definitive host. J.Parasit. 60, 621-625.
104. Coles, G.C. und Simpkin, K.G. (1977) Metabolic gradient in Hymenolepis diminuta under aerobic conditions. Int.J.Parasit. 7, 127-128.
105. De Zoeten, L.W., Posthuma, D. und Tipker, J. (1969) Intermediary metabolism in the liver fluke Fasciola hepatica. I. Biosynthesis of propionic acid. Hoppe-Seyler's Z.Physiol.Chem. 350, 683-690.
106. Saz, H.J. und Bueding, E. (1966) Relationships between anthelmintic effects and biochemical and physiological mechanisms. Pharmacol. Rev. 18, 871-894.
107. Bueding, E., Kmetec, E., Swartzwelder, C., Abadie, S. und Saz, H.J. (1960) Biochemical effects of dithiazanine on the canine whipworm, Trichuris vulpis. Biochem.Pharmacol. 4, 311-322.
108. Ward, P.F.V. (1974) The metabolism of glucose by Haemonchus contortus, in vitro. Parasitology 69, 175-190.
109. Saz, H.J. (1970) Comparative energy metabolism of some parasitic helminths. J.Parasit. 56, 634-642.

110. Saz, H.J. (1971) Facultative anaerobiosis in the invertebrates: Pathways and control systems. Amer.Zool.11, 125-135.
111. Prichard, R.K. (1969) A study of the intermediary metabolism of the adult liver fluke, Fasciola hepatica. Diss. New South Wales, Australien.
112. Van Vugt, F. (1977) Over Het Energiemetabolisme van de Volwassen Leverbot, Fasciola hepatica. Diss. Utrecht, Holland.
113. Scheibel, L.W. und Saz, H.J. (1966) The pathway of anaerobic carbohydrate dissimilation in Hymenolepis diminuta. Comp.Biochem.Physiol.18B, 151-162.
114. Bryant, C. und Behm, C.A. (1976) Regulation of respiratory metabolism in Moniezia expansa under aerobic and anaerobic conditions. In: Biochemistry of Parasites and Host-Parasite Relationships (van den Bossche, H., Ed.), S.89-100. North-Holland, Amsterdam.
115. Köhler, P. (1977) The transport of dicarboxylates and some properties of fumarase in the muscle mitochondria of Ascaris suum. Int.J. Biochem.8, 141-147.
116. Saz, H.J. und Hubbard, J.A. (1957) The oxidative decarboxylation of malate by Ascaris lumbricoides. J.biol.Chem.225, 921-933.
117. Fodge, D.W., Gracy, R.W. und Harris, B.G. (1972) Studies on enzymes from parasitic helminths. I. Purification and physical properties of malic enzyme from the muscle tissue of Ascaris suum. Biochim.biophys. Acta 268, 271-284.
118. Ochoa, S., Mehler, A.H. und Kornberg, A. (1947) Reversible oxidative decarboxylation of malic acid. J.biol.Chem.167, 871-872.
119. Landsperger, W.J. und Harris, B.G. (1976) NAD^+ -malic enzyme. Regulatory properties of the enzyme from Ascaris suum. J.biol. Chem.251, 3599-3602.
120. Payne, D.M., Powley, D.G. und Harris, B.G. (1978) Purification, characterization, and the role of fumarase in the energy metabolism of Ascaris suum. In Vorbereitung.
121. Saz, H.J. und Weil, A. (1960) The mechanism of the formation of α -methylbutyrate from carbohydrate by Ascaris lumbricoides muscle. J.biol.Chem.235, 914-918.
122. Saz, H.J. und Weil, A. (1962) Pathway of formation of α -methylvalerate by Ascaris lumbricoides. J.biol.Chem.237, 2053-2056.
123. Fioravanti, C.F. und Saz, H.J. (1974) Mitochondrial malic enzyme and transhydrogenase activities in adult Spirometra mansonioides. In: Abstracts of the 49th Annual Meeting of the American Society of Parasitologists, Kansas City, S.50.
124. Li, T., Gracy, R.W. und Harris, B.G. (1972) Studies on Enzymes from parasitic helminths. II. Purification and properties of malic enzyme from the tapeworm, Hymenolepis diminuta. Arch.Biochem.Biophys.150, 397-406.

125. Saz, H.J., Berta, J. und Kowalski, J. (1972) Transhydrogenase and anaerobic phosphorylation in Hymenolepis diminuta mitochondria. Comp.Biochem.Physiol. **43B**, 725-732.
126. Bryant, C. Persönliche Mitteilung.
127. Fioravanti, C.F. und Saz, H.J. (1976) Pyridine nucleotide transhydrogenases of parasitic helminths. Arch.Biochem.Biophys. **175**, 21-30.
128. Kmetec, E. und Bueding, E. (1961) Succinic and reduced diphosphopyridine nucleotide oxidase systems of Ascaris muscle. J.biol.Chem. **236**, 584-591.
129. Bueding, E. (1962) Comparative aspects of carbohydrate metabolism. Fed.Proc. **21**, 1039-1046.
130. Prichard, R.K. und Schofield, P.J. (1968) A comparative study of the tricarboxylic acid cycle enzymes in Fasciola hepatica and rat liver. Comp. Biochem.Physiol. **25B**, 1005-1019.
131. Köhler, P. und Bachmann R. Mol. Biochem. Parasitol. In Vorbereitung.
132. Cheah, K.S. (1966) Studies on the electron transport system of Moniezia expansa (Cestoda). Comp.Biochem.Physiol. **19B**, 197-223.
133. Cheah, K.S. (1967) Spectrophotometric studies on the succinate oxidase systems of Taenia hydatigena. Comp.Biochem.Physiol. **20B**, 867-875.
134. Cheah, K.S. (1967) The oxidase systems of Moniezia expansa (Cestoda). Comp.Biochem.Physiol. **23B**, 277-302.
135. Cheah, K.S. (1972) Cytochromes in Ascaris and Moniezia. In: Comparative Biochemistry of Parasites (van den Bossche, H., Ed.), S.417-432. Academic Press, New York.
136. Barrett, J. (1976) Bioenergetics in helminths. In: Biochemistry of Parasites and Host-Parasite Relationships (van den Bossche, H., Ed.), S.67-80. North-Holland, Amsterdam.
137. Köhler, P. und Bachmann R. (1978) The effects of the antiparasitic drugs levamisole, thiabendazole, praziquantel, and chloroquine on mitochondrial electron transport in muscle tissue from Ascaris suum. Mol.Pharmacol. **14**, 155-163.
138. Saz, H.J. (1971) Anaerobic phosphorylation in Ascaris mitochondria and the effects of anthelmintics. Comp.Biochem.Physiol. **39B**, 627-637.
139. Sato, M., Yamada, K. und Ozawa, H. (1972) Rhoquinone specificity in the reactivation of succinoxidase activity of acetone-extracted Ascaris mitochondria. Biochem.biophys.Res.Comm. **46**, 578-582.
140. Allen, P.C. (1973) Helminths: Comparison of their rhoquinone. Exp.Parasit. **34**, 211-219.
141. Köhler, P. und Saz, H.J. (1976) Demonstration and possible function of NADH:NAD⁺ transhydrogenase from Ascaris muscle mitochondria. J.biol.Chem. **251**, 2217-2225.
142. Sanadi, D.R. und Fluharty, A.L. (1963) On the mechanism of oxidative phosphorylation. VII. The energy-requiring reduction of pyridine nucleotide by succinate and the energy-yielding oxidation of reduced pyridine nucleotide by fumarate. Biochemistry **2**, 523-528.

143. Schatz, G. und Racker, E. (1966) Partial resolution of the enzymes catalyzing oxidative phosphorylation. J.biol.Chem. 241, 1429-1438.
144. Seidman, I. und Entner, N. (1961) Oxidative enzymes and their role in phosphorylation in sarcosomes of adult Ascaris lumbricoides. J.biol.Chem. 236, 915-919.
145. Hayashi, H. (1973) ATP formation by mitochondria from Ascaris lumbricoides suis. Jap.J.Parasit. 22, 97-107.
146. Hayashi, H., Nakanishi, K., Terada, M. und Shimizu, F. (1976) The influence of oxygen pressure on the survival time of Ascaris lumbricoides suum. (7) Electron transfer and phosphorylation activities in Ascaris ovary mitochondria. Jap.J.Parasit. 25, 199-204.
147. van den Bossche, H. (1972) Studies on the phosphorylation in Ascaris mitochondria. In: Comparative Biochemistry of Parasites (van den Bossche, H., Ed.), S.455-468. North-Holland, Amsterdam.
148. Hoppel, C. und Cooper, C. (1968) The action of digitonin on rat liver mitochondria. Biochem.J. 107, 367-375.
149. Podesta, R.B. und Mettrick, D.F. (1974) Pathophysiology of cestode infections: Effect of Hymenolepis diminuta on oxygen tensions, pH and gastrointestinal functions. Int.J.Parasit. 4, 277-292.
150. Lahoud, H., Prichard, R.K., McManus, W.R. und Schofield, P.J. (1971) Volatile fatty acid production by the adult liver fluke Fasciola hepatica. Comp.Biochem.Physiol. 38B, 379-391.
151. Köhler, P. Unveröffentlicht.
152. Laser, H. (1944) The oxidative metabolism of Ascaris suis. Biochem.J. 38, 333-338.
153. Prichard, R.K. und Schofield, P.J. (1971) Fasciola hepatica: Cytochrome c oxidoreductases and effects of oxygen tension and inhibitors. Exp.Parasit. 29, 215-222.
154. Chance, B. und Parsons, D.F. (1963) Cytochrome function in relation to inner membrane structure of mitochondria. Science 142, 1176-1180.
155. Lee, I.-Y. und Chance, B. (1968) Activation of malate-linked reductions of NAD and flavoproteins in Ascaris muscle mitochondria by phosphate. Biochem.biophys.Res.Comm. 32, 547-553.
156. Cheah, K.S. und Chance, B. (1970) The oxidase systems of Ascaris muscle mitochondria. Biochim.biophys.Acta 223, 55-60
157. Hayashi H., Sato, N., Oya, H. und Hagihara, B. (1974) Cytochrome composition in developing Ascaris eggs and adult muscle. In: Dynamics of Energy-transducing Membranes (Ernster, L., Estabrook, R.W. und Slater, E.C., Eds.), S.29-38. Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam.
158. Cheah, K.S. und Prichard, R.K. (1975) The electron transport systems of Fasciola hepatica mitochondria. Int.J.Parasit. 5, 183-186.
159. Cheah, K.S. (1976) Electron transport system of Ascaris muscle mitochondria. In: Biochemistry of Parasites and Host-Parasite Relationships (van den Bossche, H., Ed.), S.133-143. North-Holland, Amsterdam.

160. Cheah, K.S. (1973) Purification and properties of *Ascaris* cytochrome b_{560} . J.biol.Chem. 248, 4101-4105.
161. Goldberg, E. (1957) Studies on the intermediary metabolism of *Trichinella spiralis*. Exp.Parasit. 6, 367-382.
162. Weinbach, E.C. und von Brand, T. (1970) The biochemistry of cestode mitochondria. I. Aerobic metabolism of mitochondria from *Taenia taeniaeformis*. Int.J.Biochem. 1, 39-56.
163. Keilin, D. (1925) Proc.Roy.Soc., Ser.B, 98, 312-339.
164. Cheah, K.S. (1976) *Ascaris lumbricoides* cytochrome b_{560} . In: Biochemistry of Parasites and Host-Parasite Relationships (van den Bossche, H., Ed.), S.145-150. North-Holland, Amsterdam.
165. Hill, G.C., Perkowski, C.A. und Mathewson, N.W. (1971) Purification and properties of cytochrome c_{550} from *Ascaris lumbricoides* var. suum. Biochim.biophys.Acta 236, 242-245.
166. Köhler, P. (1976) Hydrogen transport in the muscle mitochondria of *Ascaris suum*. In: Biochemistry of Parasites and Host-Parasite Relationships (van den Bossche, H., Ed.), S.125-132. North-Holland, Amsterdam.
167. Klingenberg, M. (1970) Localization of the glycerol-phosphate dehydrogenase in the outer phase of the mitochondrial inner membrane. Eur.J.Biochem. 13, 247-252.
168. Van Vugt, F., Kalaycioglu, L. und van den Bergh, S.G. (1976) ATP production in *Fasciola hepatica* mitochondria. In: Biochemistry of Parasites and Host-Parasite Relationships (van den Bossche, H., Ed.), S.151-158. North-Holland, Amsterdam.
169. De Zoeten, L.W. und Tipker, J. (1969) Intermediary metabolism of the liver fluke *Fasciola hepatica*. II. Hydrogen transport and phosphorylation. Hoppe-Seyler's Z.Physiol.Chem. 350, 691-695.
170. Scheibel, L.W., Saz, H.J. und Bueding, E. (1968) The anaerobic incorporation of ^{32}P into adenosine triphosphate by *Hymenolepis diminuta*. J.biol.Chem. 243, 2229-2235.
171. Van Vugt, F. Persönliche Mitteilung.
172. Cheah, K.S. (1971) Oxidative phosphorylation in *Moniezia* muscle mitochondria. Biochim.biophys.Acta 253, 1-11.
173. Saz, H.J. und Vidrine, A. (1959) The mechanism of formation of succinate and propionate by *Ascaris lumbricoides* muscle. J.biol.Chem. 234, 2001-2005.
174. Williams, J.N. (1968) A comparative study of cytochrome ratios in mitochondria from organs of the rat, chicken, and guinea pig. Biochim.biophys.Acta 162, 175-181.
175. Galivan, J.H. und Allen, S.H.G. (1968) Methylmalonyl coenzyme A decarboxylase. Its role in succinate decarboxylation by *Micrococcus lactilyticus*. J.biol.Chem. 243, 1253-1261.

176. Barrett, J., Coles, G.C. und Simpkin, K.G. (1978) Pathways of acetate and propionate production in adult Fasciola hepatica. Int. J.Parasit. 8, 117-123.
177. Köhler, P., Bryant, C. und Behm, C.A. (1978) ATP synthesis in a succinate decarboxylase system from Fasciola hepatica mitochondria. Int.J.Parasit. 8, 399-404.
178. Köhler, P. Unveröffentlicht.
179. Rew, R.S. und Saz, H.J. (1974) Enzyme localization in the anaerobic mitochondria of Ascaris lumbricoides. J.Cell Biol. 63, 125-135.
180. Köhler, P. und Bachmann, R. Unveröffentlicht.
181. Bueding, E. und Yale, H.W. (1951) Production of α -methylbutyric acid by bacteria-free Ascaris lumbricoides. J.biol.Chem. 193, 411-423.
182. Saz, H.J. und Gerzon, K. (1962) Identification of α -methylvalerate as a product of Ascaris lumbricoides fermentation. Exp.Parasit. 12, 204-210.
183. Ward, C.W. und Fairbairn, D. (1970) Enzymes of beta-oxidation and the tricarboxylic acid cycle in adult Hymenolepis diminuta (Cestoda) and Ascaris lumbricoides (Nematoda). J.Parasit. 56, 1009-1012.
184. Suarez de Mata, Z., Saz, H.J. und Pasto, D.J. (1977) 2-Methyl-acetoacetate reductase and possible propionyl coenzyme A condensing enzyme activity in branched chain volatile fatty acid synthesis by Ascaris lumbricoides. J.biol.Chem. 252, 4215-4224.
185. Warren, L.G. und Poole, W.J. (1970) Biochemistry of the dog hookworm. II. Nature and origin of the excreted fatty acids. Exp.Parasit. 27, 408-416.
186. Lahoud, H., Prichard, R.K., McManus, W.R. und Schofield, P.J. (1971) The dissimilation of leucine, isoleucine and valine to volatile fatty acids by adult Fasciola hepatica. Int.J.Parasit. 1, 223-233.
187. Hamajima, F. (1967) Studies on metabolism of lung flukes genus Paragonimus. III. Occurrence of organic acids in uterine eggs larvae and adults. Jap.J.Parasit. 16, 1-7.
188. Saz, H.J., Vidrine, A. und Hubbard, J.A. (1958) The formation of α -acetylactic acid and acetylmethylcarbinol by Ascaris lumbricoides. Exp.Parasit. 7, 477-490.
189. Körting, W. und Fairbairn, D. (1972) Anaerobic energy metabolism in Moniliformis dubius (Acanthocephala). J.Parasit. 58, 45-50.
190. Reeves, R.E., Montalvo, F.E. und Lushbaugh, T.S. (1971) Nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate-dependent alcohol dehydrogenase: The enzyme from Entamoeba histolytica and some enzyme inhibitors. Int.J.Biochem. 2, 55-64.
191. Pandya, G.T. (1961) Physiological studies on nematodes Setaria cervi. I. Carbohydrate metabolism. Z.Parasitenk. 20, 466-469.
192. Köhler, P. und Gisler, J. Unveröffentlicht.

193. Barrett, J. und Beis, I. (1973) The redox state of the free nicotinamide-adenine dinucleotide couple in the cytoplasm and mitochondria of muscle tissue from Ascaris lumbricoides (Nematoda). Comp. Biochem. Physiol. 44B, 331-340.
194. Oya, H., Kichuci, G., Bando, T. und Hayashi, H. (1965) Muscle tri-carboxylic acid cycle in Ascaris lumbricoides var. suis, Exp. Parasit. 17, 229-240.
195. Langer, B.W. (1972) The glutamic acid dehydrogenase of adult female Ascaris suum. J. Parasit. 58, 539-540.
196. von Brand, T. (1974) The biochemistry of helminths. Z. Parasitenk. 45, 109-124.
197. Körting, W. und Fairbairn, D. (1971) Changes in beta-oxidation and related enzymes during the life-cycle of Strongyloides ratti (Nematoda). J. Parasit. 57, 1153-1158.
198. Oldenburg, V., van Vugt, F., van Golde, L.M.G. und van den Bergh, S.G. (1976) Synthesis of fatty acids and phospholipids in Fasciola hepatica. In: Biochemistry of Parasites and Host-Parasite Relationships (van den Bossche, H., Ed.), S.159-166. North-Holland, Amsterdam.
199. Metzger, H. und Düwel, D. (1974) The development of anthelmintics, based on investigations of metabolism of the liver fluke (Fasciola hepatica). In: Proceedings of the Third International Congress of Parasitology, Munich, S.1444-1445.
200. Senft, A.W. (1963) Observations on amino acid metabolism of Schistosoma mansoni in a chemically defined medium. Ann. N.Y. Acad. Sci. 113, 272-288.
201. Stokes, T.M. und Awapara, J. (1968) Alanine and succinate as end-products of glucose degradation in the clam Rangia cuneata. Comp. Biochem. Physiol. 25B, 883-892.
202. Gäde, G. (1975) Anaerobic metabolism of the common cockle, Cardium edule. I. The utilization of glycogen and accumulation of multiple end products. Arch. Int. Physiol. Biochim. 83, 879-886.
203. Schöttler, U. und Schroff, G. (1976) Untersuchungen zum anaeroben Glykogenabbau bei Tubifex tubifex M. J. comp. Physiol. 108, 243-254.
204. Kluytmans, J.H., De Bent, A.M.T., Janus, J. und Wijsman, T.C.M. (1977) Time dependent changes and tissue specification in the mussel Mytilus edulis L. Comp. Biochem. Physiol. 58B, 81-87.
205. Moss, G.D. (1970) The excretory metabolism of the endoparasitic digenean Fasciola hepatica and its relationship to its respiratory metabolism. Parasitology 60, 1-19.
206. Kurelec, B. und Rijavec, M. (1966) Amino acid pool of the liver fluke (Fasciola hepatica L.) Comp. Biochem. Physiol. 19B, 525-531.
207. Ertel, J. und Isseroff, H. (1974) Proline in Fascioliasis: I. Comparative activities of ornithine- δ -transaminase and proline oxidase in Fasciola hepatica and in mammalian livers. J. Parasit. 60, 574-577.

208. Isseroff, H. und Ertel, J.C. (1976) Proline in Fascioliasis: III. Activities of pyrroline-5-carboxylic acid reductase and pyrroline-5-carboxylic acid dehydrogenase in Fasciola. Int.J.Parasit 6, 183-188.
209. Isseroff, H., Tunis, M. und Read, C.P. (1972) Changes in amino acids of bile in Fasciola hepatica infections. Comp.Biochem. Physiol.41B, 157-163.
210. Isseroff, H., Sawma, J.T. und Reino, D. (1977) Fascioliasis: Role or proline in bile duct hyperplasia. Science 198, 1157-1159.
211. Beis, I. und Barrett, J. (1974) Studies on adenine nucleotide exchange in mitochondria from the muscle tissue of Ascaris lumbricoides (Nematoda). Int.J.Parasit.4, 663-666.
212. Köhler, P. und Saz, H.J. (1974) Partial purification and properties of mitochondrial NADH:NAD transhydrogenase from Ascaris lumbricoides muscle. In: Abstracts of the 49th Annual Meeting of the American Society of Parasitologists, Kansas City, S.33.
213. Köhler, P. und Saz, H.J. (1975) Studies of the physiological role of Ascaris mitochondrial NADH:NAD transhydrogenase. In: Abstracts of the 50th Annual Meeting of the American Society of Parasitologists, New Orleans, S.105.
214. Coleman, J.O.D. und Palmer, J.M. (1972) The oxidation of malate by isolated plant mitochondria. Eur.J.Biochem.26, 499-509.
215. Von Jagow, G. und Klingenberg, M. (1970) Pathways of hydrogen in mitochondria of Saccharomyces carlsbergensis. Eur.J.Biochem.12, 583-592.
216. Ehrlich, P. (1913) Lancet (II), 445-451.
217. Evans, D.A. und Brown, R.C. (1973) m-Chlorobenzhydromaxic acid - an inhibitor of cyanide-insensitive respiration in Trypanosoma brucei. J.Protozool.20, 157-160.
218. Evans, D.A. und Brown, R.C. (1973) The inhibitory effect of aromatic hydroxamic acids on the cyanide-insensitive terminal oxidase of Trypanosoma brucei. Trans.Roy.Soc.Trop.Med.Hyg.67, 258.
219. Opperdoes, F.R., Aarsen, P.N., van der Meer, C. und Borst, P. (1976) Trypanosoma brucei: An evaluation of salicylhydroxamic acid as a trypanocidal drug. Exp.Parasit.40, 198-205.
220. Clarkson, A.B. und Brohn, F.H. (1976) Trypanosomiasis: An approach to chemotherapy by the inhibition of carbohydrate catabolism. Science 194, 204-206.
221. Tanowitz, H.B., Wittner, M., Rosenbaum, R.M. und Kress, Y. (1975) In vitro studies on the differential toxicity of metronidazole in protozoa and mammalian cells. Ann.Trop.Med.Parasit.69, 19-26.
222. Müller, M., Lindmark, D.G. und McLaughlin, J. (1976) Mode of action of nitroimidazoles on trichomonads. In: Biochemistry of Parasites and Host-Parasite Relationships (van den Bossche, H., Ed.), S.537-544. North-Holland, Amsterdam.

223. Coombs, G.H. (1976) Studies on the activity of nitroimidazoles. In: Biochemistry of Parasites and Host-Parasite Relationships (van den Bossche, H., Ed.), A.545-552. North-Holland, Amsterdam.
224. Müller, M. (1977) Persönliche Mitteilung.
225. Ings, R.M.J., McFadzean, J.A. und Ormerod, W.E. (1974) The mode of action of metronidazole in Trichomonas vaginalis and other micro-organisms. Biochem.Pharmacol. 23, 1421-1429.
226. Bueding, E. (1972) Biochemical effects of antischistosomal drugs. In: Comparative Biochemistry of Parasites (van den Bossche, H., Ed.), S.25-32. Academic Press, New York.
227. Saz, H.J. und Dunbar, G.A. (1975) The effects of stibophen on phosphofructokinases and aldolases of adult filariids. J.Parasit. 61, 794-801.
228. Metzger, H. (1970) Biochemie einiger parasitische lebender Würmer und Protozoen und die Wirkungsweise chemotherapeutisch wichtiger Stoffe. Z.Parasitenk. 34, 271-295.
229. Van den Bossche, H. (1976) The molecular basis of anthelmintic action. In: Biochemistry of Parasites and Host-Parasite Relationships (van den Bossche, H., Ed.), S.553-572. North-Holland, Amsterdam.
230. Van den Bossche, H. und Janssen, P.A.J. (1967) The biochemical mechanism of action of the anthelmintic drug tetramisole. Life Sci. 6, 1781-1792.
231. Prichard, R.K. (1970) Mode of action of the anthelmintic thiabendazole in Haemonchus contortus. Nature 228, 684-685.
232. Prichard, R.K. (1973) The fumarate reductase reaction of Haemonchus contortus and the mode of action of some anthelmintics. Int.J.Parasit. 3, 409-417.
233. Prichard, R.K., Hennessy, D.R. und Steel, J.W. (1978) Prolonged administration: A new concept for increasing the spectrum and effectiveness of anthelmintics. Vet. Parasitol. 4, 309-315.
234. Romanow, R.D., Rhoads, M.K., Colglazier, M.K. und Kates, K.C. (1975) Effect of cambendazole, thiabendazole, and levamisole on fumarate reductase in cambendazole-resistant and -sensitive strains of Haemonchus contortus. J.Parasit. 61, 777-778.
235. Colglazier, M.K., Kates, K.C. und Enzie, F.D. (1975) Cross-resistance to other anthelmintics in an experimentally produced cambendazole-resistant strain of Haemonchus contortus in lambs. J.Parasit. 61, 778-779.
236. Kelly, J.D., Hall, C.A., Whitlock, H.V., Thompson, H.G., Campbell, N.J. und Martin, I.C.A. (1977) The effect of route of administration on the anthelmintic activity of benzimidazole anthelmintics in sheep infected with strains of Haemonchus contortus and Trichostrongylus colubriformis resistant and susceptible to thiabendazole. Res.Vet.Sci. 22, 161-168.

237. Hall, C.A., Campbell, N.J. und Kelly, J.D. (1977) Resistance of nematodes to anthelmintics. In: Abstracts of the 8th Int.Conf. of World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP), Sydney, S.52.
238. Le Jambre, L.F., Southcott, W.H. und Dash, K.M. (1978) Resistance of selected lines of Ostertagia circumcincta to thiabendazole, morantel tartrate and levamisole. Int.J.Parasit. 7, 473-479.
239. Van Nueten, J.M. (1972) Pharmacological aspects of tetramisole. In: Comparative Biochemistry of Parasites (van den Bossche, H., Ed.), S.101-115. Academic Press, New York.
240. Coles, G.C., East, J.M. und Jenkins, S.M. (1974) The mode of action of four anthelmintics. Experientia 30, 1265.
241. Coles, G.C., East, J.M. und Jenkins, S.M. (1975) The mechanism of action of the anthelmintic levamisole. Gen.Pharmacol. 6, 309-313.
242. Thomas, H. und Gönnert, R. (1977) The efficacy of praziquantel against cestodes in animals. Z.Parasitenk. 52, 117-127.
243. Gönnert, R. und Andrews, P. (1977) Praziquantel, a new broad-spectrum antischistosomal agent. Z.Parasitenk. 52, 129-150.
244. Thomas, H. (1977) Persönliche Mitteilung.
245. Coles, G.C. (1978) The mechanism of action of some veterinary anthelmintics. Conference Proceedings of the Association of Veterinarians in Industry.
246. Pax, R.A., Fetterer, R.E. und Bennett, J.L. (1978) Clonazepam and praziquantel: Mode of antischistosomal action. In: Abstracts of the 4th Int.Congr.Parasitology, Warszawa, Section D, S.12.
247. Coles, G.C. (1977) The biochemical mode of action of some modern anthelmintics. Pestic.Sci. 8, 536-543.
248. Van den Bossche, H. (1972) Biochemical effects of the anthelmintic drug mebendazole. In: Comparative Biochemistry of Parasites (van den Bossche, H., Ed.), S.139-157, Academic Press, New York.
249. De Nollin, S. und van den Bossche, H. (1973) Biochemical effects of mebendazole on Trichinella spiralis larvae. J.Parasit. 59, 970-976.
250. Borgers, M., De Nollin, S., De Brabander, M. und Thienpont, D. (1975) Influence of the anthelmintic mebendazole on microtubules and intracellular organelle movement in nematode intestinal cells. Amer.J.vet.Res. 36, 1153-1166.
251. Borgers, M. und De Nollin, S. (1975) Ultrastructural changes in Ascaris suum intestine after mebendazole treatment in vivo. J.Parasit. 61, 110-122.
252. Verheyen, A., Borgers, M., Vanparijs, O. und Thienpont, D. (1976) The effect of mebendazole on the ultrastructure of cestodes. In: Biochemistry of Parasites and Host-Parasite Relationships (van den Bossche, H., Ed.), S.605-618. North-Holland, Amsterdam.

253. Cornish, R.A. und Bryant, C. (1976) Changes in energy metabolism due to anthelmintics in Fasciola hepatica maintained in vitro. Int.J.Parasit.6, 393-398.
254. Bryant, C., Cornish, R.A. und Rahman, M.S. (1976) Adenine nucleotides as indicators of anthelmintic efficacy. In: Biochemistry of Parasites and Host-Parasite Relationships (van den Bossche, H., Ed.), S.599-604. North-Holland, Amsterdam.
255. Rahman, M.S. Cornish, R.A. Chevis, R.A.F. und Bryant, D. (1977) Metabolic changes in some helminths from sheep treated with mebendazole. New Zeal.Vet.J.25, 79-83.
256. Rahman, M.S. und Bryant, C. (1977) Studies of regulatory metabolism in Moniezia expansa: Effects of cambendazole and mebendazole. Int.J.Parasit.7, 403-409.
257. Bueding, E. und Fisher, J. (1970) Biochemical effects of niridazole on Schistosoma mansoni. Mol.Pharmacol.6, 532-539.
258. Robinson, C.H., Bueding, E. und Fisher, J. (1970) Relationship between structure, conformation, and antischistosomal activity of nitroheterocyclic compounds. Mol.Pharmacol.6, 604-616.
259. Robinson, C.H., Spengel, S. und Bueding, E. (1973) Structure and antischistosomal activity in the nitrofuran series. Requirement for a 5-nitro group in 3-(5-nitro-2-furyl) acrylic acid derivatives. J.med.Chem.16, 79-80.
260. Saz, H.J. und Lescure, O.L. (1968) Effects of anticestodal agents on mitochondria from the nematode, Ascaris lumbricoides. Mol.Pharmacol.4, 407-410.
261. Van den Bossche, H. (1972) Studies on the phosphorylation in Ascaris mitochondria. In: Comparative Biochemistry of Parasites (van den Bossche, H., Ed.), S.455-468. Academic Press, New York.
262. Yorke, R.E. und Turton, J.A. (1974) Effects of fasciolicidal and anti-cestode agents on the respiration of isolated Hymenolepis diminuta mitochondria. Z.Parasitenk.45, 1-10.
263. Cornish, R.A., Behm, C.A., Butler, R.W. und Bryant, C. (1977) The in vivo effects of rafoxanide on the energy metabolism of Fasciola hepatica. Int.J.Parasit.7, 217-220.
264. Prichard, R.K. (1978) The metabolic profile of adult Fasciola hepatica obtained from rafoxanide treated sheep. Parasitology 76, 277-288.
265. Metzger, H. und Düwel, D. (1973) Investigations of the metabolism in the liver fluke (Fasciola hepatica) as an aid to the development of new anthelmintics. Int.J.Biochem.4, 133-143.
266. Düwel, D. und Metzger, H. (1973) 2,6-Dihydroxybenzoic acid anilides as fasciolicides. J.med.Chem.16, 433-436.
267. Druckrey, E. und Metzger, H. (1973) 2,6-Dihydroxybenzoic acid anilides active against liver flukes. A Hansch analysis. J.med.Chem.16, 436.439.

268. Tollenaere, J.P., Moereels, H. und van den Bossche, H. (1976) Comparison of the structure-activity relationships of substituted phenols as uncouplers of oxidative phosphorylation in rat liver and *Ascaris* muscle mitochondria. In: Biochemistry of Parasites and Host-Parasite Relationships (van den Bossche, H., Ed.), S.628-636. North-Holland, Amsterdam.
269. Bryant, C. (1977) Persönliche Mitteilung.
270. Borst, P. (1977) Metabolism and chemotherapy of African trypanosomes. Trans.Roy.Soc.Trop.Med.Hyg. 71, 3-4.
271. Trouet, A., Jadin, J.-M. und van Hoof, F. (1976) Lysosomotropic chemotherapy of protozoal diseases. In: Biochemistry of Parasites and Host-Parasite Relationships (van den Bossche, H., Ed.), S.519-522. North-Holland, Amsterdam.
272. Fairlamb, A.H. und Bowman, I.B.R. (1977) Trypanosoma brucei: Suramin and other trypanocidal compounds' effects on sn-glycerol-3-phosphate oxidase. Exp.Parasit. 43, 353-361.
273. Muller, W.E. und Wollert, U. (1976) Spectroscopic studies on the complex formation of suramin with bovine and human serum albumin. Biochim.biophys.Acta 427, 465-480.
274. Barrett, J. (1978) Pyruvate and citrate metabolism in the muscle tissue of Ascaris lumbricoides. Z.Parasitenk. 155, 223-227.
275. Müller, M. und Lindmark D.L. (1978) Respiration of hydrogenosomes of Tritrichomonas foetus. II. Effect of CoA on pyruvate oxidation. J. biol. Chem. 253, 1215-1218.
276. Steck, E.A. (1971) In: The Chemotherapy of Protozoan Diseases (Div. Med. Chem., Walter Reed Army Inst. Res.), Bd.I, Sektion 2, S. 3.143-3.149.
277. Richle, R., Scholer, H.J., Angehrn, P., Fernex, M., Hummler, H., Jennet, F., Schärer, K., Schüpbach, M. und Schwartz, D.E. (1978) Grundlagen der Chemotherapie von Trichomoniasis und Amöbiasis mit Ornidazol. Drug Res. 28, 612-625.

